

Thesis

TÜBINGEN

1967

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE HITZERESISTENZ
UND CIRCADIANE RHYTHMIK VON OENOTHEREN
BEKANNTER GENETISCHER KONSTITUTION

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

HANS DIETER FREY

aus Bad Cannstatt

1967

9236

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 EAST UR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE HITZERESISTENZ UND CIRCADIANE RHYTHMIK
VON OENOTHEREN BEKANNTER GENETISCHER KONSTITUTION

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Hans Dieter Frey
aus Bad Cannstatt

1967

Tag der mündlichen Prüfung:	20. Juli 1967
Dekan:	Prof.Dr.R.Schönenberg
1. Berichterstatter:	Dozent Dr.B.Schwemmele
2. Berichterstatter:	Prof.Dr.E.Bünning

Herrn Privatdozent Dr.B.SCHWEMMLE danke ich herzlich für die
Anregung zu dieser Arbeit, für seine vielfache Unterstützung
und für Diskussionen.

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG	Seite 1
II. METHODE	4
1. Die Versuchsobjekte	4
2. Vorkultur und Hitzeresistenzbestimmungen	5
3. Statistik	7
III. VERSUCHSERGEBNISSE	9
A) <u>Versuche zur Hitzeresistenz in Abhängigkeit von der genetischen Konstitution</u>	9
1. Vorversuche	9
2. Das Verhalten verschiedener Raimannia-Cenotheren gegenüber hohen Temperaturen	16
a) Die Hitzeresistenz von Oe.berteriana und Oe.odorata	16
b) Der Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auf die Hitzeresistenz	19
c) Zur Frage einer Trennung von Cytoplasmon- und Plastomwirkung	26
d) Die Genomabhängigkeit der Hitzeresistenz	30
3. Hitzeresistenzuntersuchungen an Keimlingen	33
a) Versuche mit verschiedenen Formen	33
b) Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz	36
B) <u>Versuche zur Genetik der circadianen Rhythmik</u>	39
1. Methode	39
2. Die Blattbewegungen von Oe.berteriana und Oe.odorata	41
3. Untersuchungen mit den reziproken Bastarden und den verschiedenen B.1- und v.I-Formen	44
4. Der Einfluß der Chromosomenkomplexe auf die Spontanperiode	45
IV. DISKUSSION	47
V. ZUSAMMENFASSUNG	53
VI. LITERATURVERZEICHNIS	55

I. EINLEITUNG

Entwicklungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen bei höheren Pflanzen sollten nicht nur unter konstanten Bedingungen, sondern auch mit genetisch bekannten Versuchsubjekten durchgeführt werden. Dafür ist unter anderem die Gattung *Oenothera* mit den einjährigen *Oe. berteriana* und *Oe. odorata* (Untergattung *Raimannia*, Familie *Onagraceae*) und mit den aus diesen Elternformen gewonnenen Bastarden in nahezu idealer Weise geeignet.

Die *Oenotheren* *Oe. berteriana* und *Oe. odorata* sind Komplexheterozygoten im Sinne RENNERS (1917), die sich durch Selbstbestäubung als erbkonstante reine Linien bekannter genetischer Konstitution weiterziehen lassen (CLELAND 1962). Die Nachkommenschaft der beiden *Oenotheren* ist mehrförmig und folgt in ihrer Nachzucht denselben Gesetzmäßigkeiten. Damit verbunden ergibt sich die Möglichkeit, den Einfluß der außerkaryotischen Konstitution in Verbindung mit drei oder vier Bastardgenotypen nebeneinander vergleichend zu prüfen. Im Gegensatz zu vielen anderen Versuchsobjekten kann so eine bestimmte, eventuell gerichtete außerkaryotische Wirkung nicht nur mit einem, sondern verbunden mit mehreren Genomen untersucht werden. Außerdem kann die genetische Wirksamkeit der Chromosomenkomplexe getrennt erfaßt werden.

Durch die Untersuchung von morphologischen Merkmalen, wie Blattzählung, Hypanthienlänge u.a. (J. SCHWEMMLE 1938 a, b, 1941, HAUSTEIN 1938) und durch die Prüfung von physiologischen Eigenschaften, z.B. des photoperiodischen Blühverhaltens (B. SCHWEMMLE 1962), konnten wichtige Ergebnisse über die genetische und entwicklungsphysiologische Bedeutung von Kern, Cytoplasma und Plastiden gewonnen werden. Weitere Befunde liegen inzwischen vor von HAURY (1962) und von STEIN (1962) für die Beeinflussung der Wirksamkeit des Phytochrom-Systems, von KUNZE (1966) an Hand der Wirkungsspektren der Samenkeimung

und von FREY und B.SCHWEMMLE (1967) für die Steuerung der Blattbewegung als Merkmal der circadianen Rhythmik. Für die Interpretation derartiger Versuche muß geprüft werden, ob tatsächlich die auf Grund der Kreuzungsanalysen geforderte genetische, vor allem außerkaryotische Konstitution zutrifft. Für eine solche Prüfung schien uns die Bestimmung der Hitzeresistenz besonders geeignet, die als primäres, plasmatisches Merkmal (LANGE 1959) direkt von den spezifischen Eigenschaften des jeweiligen Plasmas abhängt (BELEHRADEK 1935, BOGEN 1948, PRECHT, CHRISTOPHERSEN und HENSEL 1955, LEVITT 1958).

Oenotheren, die sich bei gleichem Genotypus nur durch den Besitz des Cytoplasmas und der Plastiden der *Oe.berteriana* bzw. der *Oe.odorata* unterscheiden, sollten dann ein verschiedenes Schädigungsverhalten zeigen, unter der Voraussetzung, daß sich Cytoplasmon und Plastom der Ausgangsformen unterscheiden. Es war somit zu prüfen, 1. ob Unterschiede in der Hitzeresistenz der Ausgangsarten nachzuweisen sind, 2. inwieweit Cytoplasma und Plastiden einen selbständigen Einfluß ausüben und 3. ob eine Trennung von Cytoplasmon- und Plastomwirkung möglich ist.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen berechtigten, weitere physiologische Fragen aufzugreifen. Eine davon, die Frage nach dem Erbgang der circadianen Rhythmik, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, zumal über den Sitz der "inneren Uhr" bisher noch nichts Sicheres bekannt ist. Neben den endogen-tagesperiodischen Schwankungen der Hitzeresistenz wurden hierfür die unter konstanten Bedingungen weiterschwingenden Blattbewegungen geprüft. Zunächst sollten dabei Unterschiede in der freilaufenden

Rhythmik der beiden Arten *Oe.berteriana* und *Oe.odorata* festgestellt werden, um dann den Einfluß von Kern, Cytoplasma und Plastiden aus dem Verhalten ihrer Bastarde abzuleiten. Dabei ist von Bedeutung, daß durch den biochemischen und elektronenmikroskopischen Nachweis von Nukleinsäuren (DNS) in Chloroplasten und Mitochondrien nun auch die außerkaryotische Konstitution einen materiellen Inhalt bekommt (Zusammenfassungen bei KIEFER und SANDRITTER 1966 und bei KIRK and TILNEY-BASSETT 1967). Der Nachweis von chemischen Unterschieden in der DNS bei bestimmten Plastiden- und Mitochondriendifferenzen steht allerdings noch aus (STUBBE 1966).

II. METHODE

1. Die Versuchsobjekte

Genetische Konstitution und Selbstungsgeneration der untersuchten *Oenotheren* wurden in Tabelle 1 zusammengestellt. Die für die Versuche verwendeten Samen stammten aus den Nachzuchten der Jahre 1962 bzw. 1963, waren also nie älter als drei Jahre und in jedem Falle gut keimfähig.

Tabelle 1. Genetische Konstitution der untersuchten *Oenotheren*.

Nr.	Konstitution ¹⁾	Selbstungs- ²⁾ generation
	<i>Oenothera berteriana</i> :	
1	B.l bert.Cyt., bert.Plast.	F _x
2	B.l od.Cyt., bert.Plast.	F _{8,9}
	<i>Oenothera odorata</i> :	
3	v.I od.Cyt., od.Plast.	F _x
4	v.I bert.Cyt., od.Plast.	F _{6,7}
5	v.I bert.Cyt., bert.Plast.	F _{6,7}
8	B.I bert.Cyt., bert.Plast.	F _{26,27}
9	B.I od.Cyt., od.Plast.	F _{26,27}
10	l.I bert.Cyt., bert.Plast.	F _{5,6}
11	l.v bert.Cyt., bert.Plast.	F _{22,23}
12	l.v od.Cyt., od.Plast.	F _{23,24}
13	B.v bert.Cyt., bert.Plast.	F _{22,23}
14	B.v od.Cyt., od.Plast.	F _x

¹⁾ Folgende Abkürzungen wurden hier und in der Arbeit verwendet: bert.Cyt., bert.Plast. = berteriana-Cytoplasma, berteriana-Plastiden; od.Cyt., od.Plast. = odorata-Cytoplasma, odorata-Plastiden. Oe. = *Oenothera*.

²⁾ Saatgut aus den Selbstungen 1962 und 1963, Tübingen. Das Saatgut stellte freundlicherweise Herr Dr. B. SCHWEMMLE zur Verfügung, dem ich auch an dieser Stelle herzlich danke.

Aus Kreuzungen der *Oe.berteriana* mit den je 7 Chromosomen umfassenden Komplexen B und I und der *Oe.odorata* mit den Komplexen v und I erhält man Bastarde mit den Genomen B.v, B.I und I.v, jeweils mit dem Cytoplasma und den Plastiden der einen oder der anderen Elternart. Zu I.I bert.Cyt.bert.Plast. ist keine reziproke Form vorhanden. Die Möglichkeit der Trennung von Cytoplasmon und Plastom ist bei den verschiedenen B.I- und v.I-Konstitutionen gegeben. Bei gleichem Genotypus unterscheiden sich diese nur im Cytoplasma oder in den Plastiden der *Oe.berteriana* bzw. der *Oe.odorata* (Zur Synthese und genetischen Analyse vgl. J.SCHWEMMLE 1938 a, b, 1941, 1957; Zusammenfassungen bei ARNOLD 1963 und HAGEMANN 1964).

2. Vorkultur und Hitzeresistenzbestimmungen

Die Aussaat erfolgte in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier. Nach Sichtbarwerden der Keimblätter wurden die Pflänzchen in rechteckige Plastikbehälter in feingesiebte mit Sand vermengte Standarderde (Typ ED 63, Gebr.Patzner, Jossa) im Abstand von 2 cm gesetzt und später in Töpfe von 9 cm Durchmesser pikiert. Da sämtliche untersuchten *Oenotheren* obligatorische bzw. fakultative Langtagpflanzen sind, wurde mit einem 8:16 Std.-Licht-Dunkelwechsel die Blütenbildung verhindert. Nach Ausbildung von 15 - 20 Blättern wurden vergleichbare Exemplare der einzelnen Gruppen in einer Klimakammer einem 12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsel bei $20 \pm 10^\circ\text{C}$ und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 - 70% ausgesetzt. Die Lichtintensität betrug in Pflanzenhöhe $13\,000\text{ erg/cm}^2\cdot\text{sec}$ (Leuchtstoffröhren Osram L 15 und L25 im Verhältnis 1:1).

Die Anzucht der *Oenotheren* für die Versuche an Keimlingen erfolgte in Petrischalen in einer Klimakammer (12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsel, $20 \pm 10^\circ\text{C}$, $11\,000\text{ erg/cm}^2\cdot\text{sec}$, Osram Fluora). Nach der Keimung wurden in der Entwicklung zurückgebliebene Pflänzchen bzw. taube Samen ausgelesen, sodaß nach 14 - 16 Tagen gleichmäßig gewachsene Keimlinge für Resistenzbestimmungen zur Verfügung standen.

Zwei verschiedene Methoden wurden nebeneinander benutzt: Eine Erhitzung von älteren Pflanzen im Wasserbad und die Bestimmung an Keimlingen im dampfgesättigten Luftraum. Erstere geht im Prinzip auf SACHS (1864) zurück und wurde für Resistenzbestimmungen immer wieder verwendet (z.B. B.SCHWEMMLE und LANGE 1959, WAGENBRETH 1965, LOMAGIN and ANTROPOVA 1966). Die beblätterten oberirdischen Teile von 20 Topfpflanzen wurden gleichzeitig in ein Wasserbad getaucht, das bei einer Konstanz von $+ 0,1^{\circ}\text{C}$ durch ein Rührwerk ständig umgewälzt wurde (Thermofix II, Fa. B.Braun, Melsungen). Die Temperaturkontrolle erfolgte mit einem geeichten Thermometer. In Vorversuchen war eine Tauchzeit von 30 Minuten und eine Erhitzungstemperatur von $43,0$ bis $47,0^{\circ}\text{C}$ als geeignet bestimmt worden. Nach dieser Behandlung zeigten die Pflanzen keinerlei Veränderungen. Erst während der Nachkulturzeit von genau 5 Tagen in einer Klimakammer (Bedingungen wie Anzucht) traten deutlich sichtbare Schäden auf. Zuerst verfärbten sich die Blattspitze und Teile der vorderen Blattbezirke, später breiteten sich die bräunlichgelben Bereiche je nach Grad der Schädigung des betreffenden Blattes bis zu einer bestimmten Größe aus (vgl. LANGE und B. SCHWEMMLE 1960). Der Schädigungsgrad wurde ermittelt durch Schätzen der in der Regel fest umrissenen Bezirke in Prozenten der gesamten Blattfläche. Zum Vergleich wurden in einigen Fällen die geschädigten Flächen ausplanimetriert; die Ergebnisse stimmten mit den Schätzungen überein.

Für die Versuche an Keimlingen wurde die Bestimmung im dampfgesättigten Luftraum vorgenommen. Die Petrischalen mit 14 - 16 Tage alten Oenotheren-Pflanzen wurden mit einem Gummiring und einer Spannvorrichtung dicht abgeschlossen und in ein Wasserbad (Temperaturkonstanz $+ 0,1^{\circ}\text{C}$) eingetaucht. Durch Temperaturkontrolle im Luftraum der Petrischale konnte gezeigt werden, daß eine Angleichung an die Temperatur des Bades in 2 - 3 Minuten eintrat. Als günstigste Versuchsbedingung wurde eine Erhitzungstemperatur von 47°C und eine Tauchzeit von 15 Minuten ermittelt. Die Bestimmung der Schäden erfolgte nach genau 10 Tagen durch den Vergleich der Anzahl der abgetöteten Keimlinge mit der Gesamtzahl der vorhandenen Pflänzchen und quantitativ nach einer Methode, die z.B. auch LOMAGIN and ANTROPOVA (1966) verwendeten. Dabei wird der Grad der Schädigung angegeben z.B. durch das Verhältnis des Chlorophyll a-Gehaltes in behandelten und unbehandelten Blättern. Die Ermittlung der Pigmentmenge erfolgte spektralphotometrisch in 85%igem wässrigem Aceton (p.a. Merck), wobei c_a , c_b und c_{car} jeweils den Gehalt an Chlorophyll a, b und den Carotinoiden in $\mu\text{g/ml}$ angeben (RÖBBELEN 1957, METZNER, RAU und SENGER 1965):

$$c_a = 10,34 \times \epsilon^{663} - 0,920 \times \epsilon^{644}$$

$$c_b = 19,69 \times \epsilon^{644} - 3,860 \times \epsilon^{663}$$

$$c_{car} = 4,20 \times \epsilon^{452,5} - (0,0264 \times c_a + 0,496 \times c_b)$$

Als Bezugsgröße diente die Zahl der Keimlinge je Bestimmung, da Trockengewicht, Eiweißgehalt und andere Größen selbst in charakteristischer Weise von der Versuchsbedingung bzw. von der genetischen Konstitution abhängen. Zur Ermittlung der endogen-tagesperiodischen Schwankungen der Hitzeresistenz wurden die Bestimmungen der Chloroplastenpigmente entsprechend in dreistündigen Abständen mit Keimlingen im Licht-Dunkelwechsel bzw. im Dauerlicht durchgeführt. Die Methode zur Registrierung von Blattbewegungen wird im Abschnitt B besprochen.

3. Statistik

Die Werte für die Hitzeschädigung bei älteren Pflanzen wurden angegeben in Prozenten der Blattfläche, wobei die Bestimmungen vergleichbarer Blätter verschiedener Pflanzen gleicher genetischer Konstitution zu Mittelwerten zusammengefaßt wurden. Um für die ganze Pflanze einen repräsentativen Wert zu erhalten, wurden die Schädigungsprozente der Blätter Nr. 1 - 20 gemittelt, wobei von einem 5 mm langen Blatt der Gipfelknospe ausgehend nummeriert wurde. Hierauskonnte für jede Versuchsgruppe ein Mittelwert gewonnen werden, der als Gesamtschädigung der Pflanze bezeichnet wird.

Der Standardfehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) errechnet sich wie üblich aus

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_1} (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

(x_i = Merkmalswert des i-ten Falles, $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel, n = Gesamtzahl der Fälle).

Zur statistischen Sicherung wurde der t-Test (PÄTAU 1943) und der nicht-parametrische Rangtest nach MANN-WHITNEY (U-Test) herangezogen bzw. eine Modifikation, die bei Rangaufteilung

ein als Minuend fungierendes Korrekturglied berücksichtigt (SIEGEL 1956, LIENERT 1962). Für orientierende Vorversuche wurden 2 - 5 Pflanzen meist von *Oe. berteriana* geprüft, während für die statistisch bearbeiteten Hauptversuchsreihen Bestimmungen an jeweils 20 Blättern von über 1 000 Pflanzen durchgeführt wurden. Die Ergebnisse konnten durch Chlorophyllbestimmungen an Keimlingen erweitert werden. Die mehrfache Wiederholung der Versuche in den Jahren 1963 bis 1966 ergab eine prinzipielle Übereinstimmung.

III. VERSUCHSERGEBNISSE

A) Versuche zur Hitzeresistenz in Abhängigkeit von der genetischen Konstitution

1. Vorversuche

a) Einfluß der Temperatur

Um einen Überblick über die Empfindlichkeit der Versuchspflanzen gegenüber hohen Temperaturen zu gewinnen, wurden vergleichbare vegetative Exemplare von *Oe. berteriana* für 30 min in ein Wasserbad von verschiedener Temperatur getaucht (40 - 54°C). Ausgewertet wurde jede Pflanze nach 2, 3, 4 und 5 Tagen, indem der Schädigungsgrad für jedes Blatt getrennt in Prozenten der Blattfläche protokolliert wurde. Es zeigte sich, daß eine Temperatur von 42,0°C keine sichtbaren Schäden bewirkte, während eine Erhitzung auf 48,0°C zum vollständigen Absterben der oberirdischen Teile führte (Protokollierung nach 5 Tagen). Temperaturen zwischen 42,0°C und 48,0°C schädigten die Pflanzen so, daß einzelne Blätter sich nur teilweise verfärbten und vertrockneten.

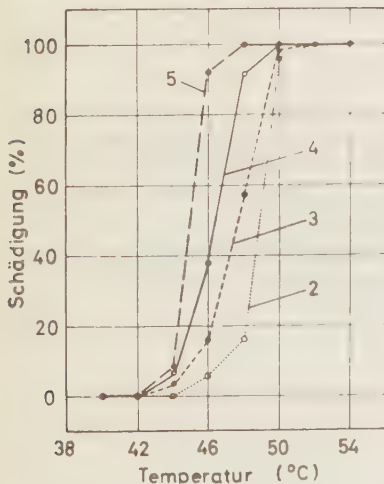


Abb. 1. Hitzeschädigung von *Oe. berteriana* in Abhängigkeit von der Temperatur bei einer Tauchzeit von 30 min. Protokollierung nach 2, 3, 4 bzw. 5 Tagen. Abszisse: Temperatur in Grad Celsius. Ordinate: Schädigung in Prozenten der Blattfläche. Meßwerte für das 8. Blatt.

Die kritische Temperatur, die eine Schädigung zwischen 10 und 90% bewirkte, lag in einem Bereich von 44,0 bis 46,0°C. Pflanzen, die einer 30-minütigen Behandlung bei 44,0°C ausgesetzt waren, wurden kaum, Pflanzen, die 30 Minuten bei 46,0°C geprüft wurden, wurden fast vollständig geschädigt.

b) Einfluß der Einwirkungszeit

Von entscheidender Bedeutung für den Schädigungsgrad einer Pflanze ist auch die Einwirkungsdauer der hohen Temperatur. Um die Hitzeschädigung von *Oe. berteriana* in Abhängigkeit von der Tauchzeit zu bestimmen, wurden vergleichbare Exemplare 15, 30, 60 und 120 Minuten bei 46,0°C belassen. Die Auswertung erfolgte nach genau 3, 4 und 5 Tagen. Es ergab sich, daß bei 46,0°C eine Erhitzungsdauer von 120 Minuten zum vollständigen Absterben der Pflanzen führte. 15 Minuten bei 46,0°C bewirkten jedoch, nach genau 5 Tagen protokolliert, nur eine geringe Schädigung. Vor allem durch die Verdoppelung der Tauchzeit von 15 auf 30 Minuten stieg die Gesamtschädigung verhältnismäßig stark an. Der Umschlagpunkt zwischen ungeschädigten und geschädigten Pflanzen (Gesamtschädigung 50%) lag demnach bei fünftägiger Nachkultur zwischen 25 und 30 Minuten Einwirkungszeit und einer Temperatur von 46,0°C (Vgl. Abb. 2).

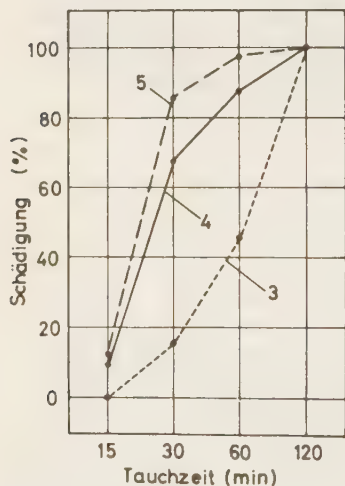


Abb. 2. Hitzeschädigung der *Oe. berteriana* in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit bei einer Tauchtemperatur von 46,0 + 0,1°C. Protokollierung nach 3, 4 bzw. 5 Tagen. Abszisse: Einwirkungszeit in Minuten (Maßstab logarithmisch). Ordinate: wie Abb. 1.

c) Abhängigkeit vom Blattalter

Seit langem ist bekannt, daß sich die einzelnen Blätter einer Pflanze in ihrer Hitzeresistenz unterscheiden (vgl. z.B. BOGEN 1948). Die Änderung der Hitzeresistenz mit dem Blattalter ist jedoch bei verschiedenen Arten durchaus unterschiedlich (Zusammenfassung bei LANGE 1967). Bei *Primula obconica* z.B. sind wie bei vielen anderen Pflanzen junge Blätter empfindlicher, alte dagegen resistenter gegenüber hohen Temperaturen (SAPPER 1935). Für das Moos *Atrichium undulatum* gilt der umgekehrte Fall (nach DIRCKSEN aus LANGE 1967). Von *Kalanchoe bloßfeldiana* werden hingegen am stärksten die noch nicht

ausgewachsenen Blattwirtel 3 und 4 geschädigt, während die jüngeren und älteren Blätter unempfindlicher sind (B. SCHWEMMLE und LANGE 1959).

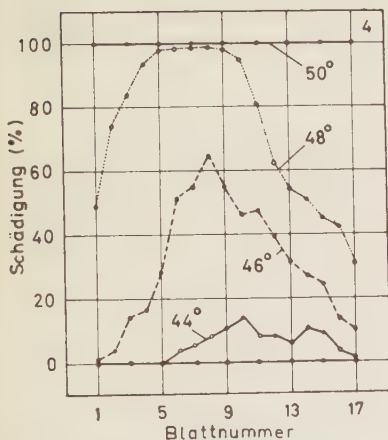


Abb. 3a.

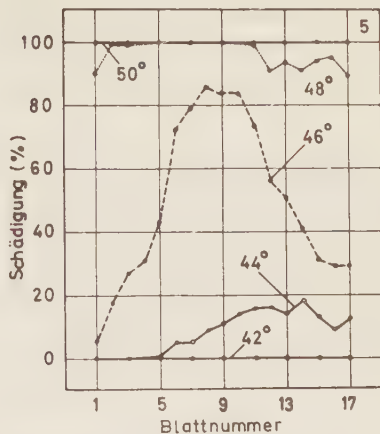


Abb. 3b.

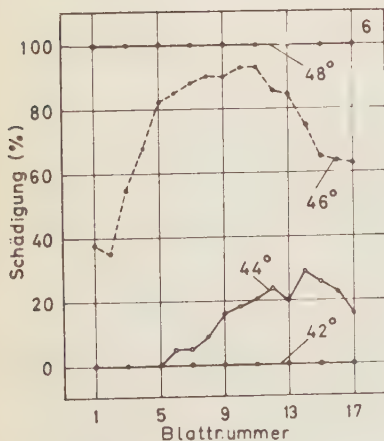


Abb. 3c.

Hitzeschädigung verschieden alter Blätter von *Oe. berteriana* durch Temperaturen von 42,0 bis 50,0°C. Einwirkungszeit 30 Minuten, Protokollierung nach 4 (Abb. 3a), 5 (Abb. 3b) bzw. 6 (Abb. 3c) Tagen. Abszisse: Blattnummer; die Blätter wurden von einem 5 mm langen Blatt ausgehend nummeriert. Ordinate: Schädigung in Prozenten der Blattfläche.

Die Versuche mit *Oe. berteriana* erbrachten folgende Ergebnisse: Junge und ältere grüne Blätter waren wesentlich widerstandsfähiger gegen hohe Temperaturen, während stark wachsende Blätter einer bestimmten mittleren Alterstufe eine hohe Empfindlichkeit besaßen. Für eine bestimmte Einwirkungstemperatur und eine bestimmte Tauchzeit ergab sich so für eine bestimmte Blattfolge ein Schädigungsbild, das von älteren und von jüngeren Blättern nicht erreicht wurde, sodaß man wie bei *Kalanchoë* von der Ausbildung eines Resistenzminimums (= Schädigungsmaximums) sprechen kann.

In Abb. 3 a-c wurde das typische Schädigungsverhalten verschieden alter Blätter von *Oe. berteriana* dargestellt. Bei einer Tauchtemperatur von 46,0°C und einer Tauchzeit von 30 Minuten (Protokollierung nach 4 Tagen) zeigte sich die stärkste Schädigung an Blatt Nr. 8 mit 65% der Blattfläche. Im Vergleich dazu waren Blatt Nr. 1 und Blatt Nr. 17 nur zu 2 bzw. 11% geschädigt. Die Lage der empfindlichsten Stelle war in der Blattfolge etwas unterschiedlich je nach Einwirkungstemperatur. Eine Temperatur von 44,0°C schädigte besonders stark ältere Blätter der Pflanzen (Blatt Nr. 12 - 15), eine Temperatur von 46,0°C wirkte schädigend auf mittlere Blätter, und durch 48,0°C wurden die Blätter Nr. 5 - 9 am stärksten beeinflusst. *Oe. berteriana* zeigte demnach nicht nur eine unterschiedliche Hitzeschädigung verschieden alter Blätter, sondern auch eine unterschiedliche Lage des Resistenzminimums bei verschiedenen Temperaturen (vgl. LANGE und B.SCHWEMMLE 1960).

d) Abhängigkeit von der Tageszeit

Bei Feldgetreidearten ändert sich die Hitzeempfindlichkeit tagesperiodisch (LAUDE 1939). Ähnlich verhält sich *Kalanchoë bloßfeldiana*. Hier werden die Blätter während der Mitte der Lichtperiode am stärksten geschädigt, während die Resistenz in den Dunkelzeiten wesentlich größer ist. Nach Wegfall des steuernden Licht-Dunkelwechsels setzen sich die Hitzeresistenzschwankungen über Tage im Dauerlicht in gleicher Phasenlage fort. Damit konnte gezeigt werden, daß die obere Temperaturgrenze der Lebensfähigkeit durch die im Laufe eines Tages aufeinanderfolgenden Phasen der circadianen Rhythmik beeinflusst wird (B.SCHWEMMLE und LANGE 1959). LOMAGIN und ANTROPOVA (1966) untersuchten die Hitzeresistenz an Blättern von *Tradescantia fluminensis* nach Kurzzeiterhitzung im Wasserbad. Im Licht (13 000 Lux) war die Empfindlichkeit der Pflanzen stark erhöht. Belichtete Blätter wurden schon durch Temperaturen über 44°C geschädigt, während bei Verdunkelung Hitzeschäden erst oberhalb von 54°C festzustellen waren. SAPPER (1935) gibt dagegen an, daß eine Belichtung während der Versuche die Hitzeresistenz nicht beeinflusst. Daraus ergab sich die Frage, ob derartige Schwankungen auch bei *Oenotheren* auftreten und methodisch berücksichtigt werden müssen.

Orientierende Vorversuche mit *Oe.odorata* ergaben eine gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen zu Beginn der Lichtzeit und eine geringere Empfindlichkeit 12 Stunden später am Anfang der Dunkelzeit eines 12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsels. Die Annahme, daß sich auch bei *Oenotheren* die tagesperiodischen Resistenzänderungen unter konstanten Bedingungen fortsetzen, konnte mit Versuchen an Keimlingen bestätigt werden (vgl. Abschnitt 3 b).

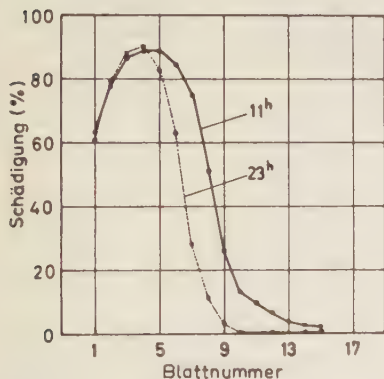


Abb. 4. Hitzeschädigung von *Oe.odorata* zu verschiedenen Tageszeiten im 12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsel (Lichtzeit: 8 - 20 Uhr). Aufgetragen wurde der Schädigungsgrad der einzelnen Blätter in Prozenten der Blattfläche, die 5 Tage zuvor um 11 bzw. 23 Uhr erhitzt wurden (30 min, 43,6°C). Mittelwerte aus 25 (11 Uhr) bzw. 10 (23 Uhr) Pflanzen.

In Abb. 4 wurde die Hitzeschädigung der einzelnen Blätter von *Oe.odorata* um 11 bzw. um 23 Uhr dargestellt (30 min, 43,6°C, Protokollierung nach 5 Tagen). Die Gesamtschädigung (s. Methode) der Pflanzen betrug in der Lichtzeit (11 Uhr) $48,8 \pm 1,4\%$ ($n = 25$) und in der Dunkelzeit (23 Uhr) nur $36,5 \pm 2,1\%$ ($n = 10$). *Oe.odorata* ist damit zu Beginn der Lichtzeit wesentlich empfindlicher als 12 Stunden später nachts. Erwähnt werden soll hier schon der auffällige Unterschied in der Gesamtschädigung und im Schädigungsgrad der einzelnen Blätter der beiden Arten *Oe.berteriana* (vgl. Abb. 3) und *Oe.odorata* (vgl. Abb. 4).

e) Hitzeresistenz vegetativer und blühender *Oenotheren*

Die Versuchspflanzen wurden zunächst unter nichtinduktiven Bedingungen in einem Dunkelzelt im Gewächshaus herangezogen (vgl. Methode). Im Alter von zwei Monaten wurde ein Teil der Pflanzen aus dem 8 Std.-Kurztag des Dunkelzeltes in den natürlichen Langtag gebracht. Die Pflanzen im Dunkelzelt blieben vegetativ, während die unter induktiven Bedingungen stehenden *Oenotheren* blühten. Zur Einregulierung der Tagesrhythmik wurden alle Versuchspflanzen in eine Klimakammer mit 12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsel gestellt. Die Hitzeresistenz der Blätter wurde in der angegebenen Weise bestimmt.

In Abb. 5 wurde die Schädigung vegetativer und blühender Pflanzen in Abhängigkeit vom Blattalter für *Oe.odorata* (v.I arg.Cyt.,arg.Plast)¹⁾ dargestellt. Die Blätter Nr. 6 und 7 der vegetativen Pflanzen waren in einer besonders empfindlichen Phase, sodaß deutlich ein Schädigungsmaximum im Bereich der nicht voll ausgewachsenen Blätter auftrat. Bei blühenden Pflanzen war das Schädigungsmaximum erheblich zu jüngeren Blättern hin verschoben. Die stärkste Schädigung durch hohe Temperatur erfolgte bei blühenden Exemplaren an Blatt Nr. 2 und 3. Die Gesamtschädigung unterschied sich allerdings nicht stark (blühend: $31,5 \pm 2,8\%$, $n = 4$; vegetativ: $33,5 \pm 1,1\%$, $n = 25$).

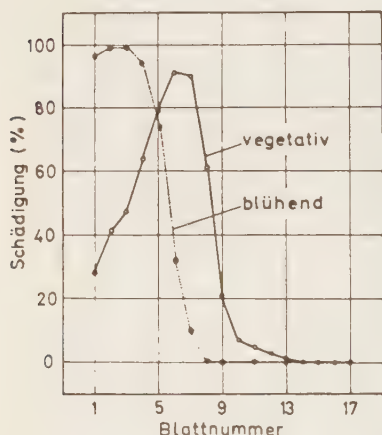


Abb. 5. Hitzeschädigung vegetativer und blühender Pflanzen von *Oe.odorata* (v.I arg.Cyt., arg.Plast.)¹⁾. 30 min, $43,7^{\circ}\text{C}$, Protokollierung nach 5 Tagen. Mittelwerte aus 4 (blühend) bzw. 25 (vegetativ) Pflanzen.

Über eine Änderung der Hitzeresistenz beim Übergang von vegetativen zu blühenden Pflanzen berichteten z.B. LANGE und B.SCHWENMLE (1960). Bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë bloßfeldiana* tritt schon nach wenigen Kurztagen ein deutlicher Anstieg der Widerstandsfähigkeit gegenüber hohen Temperaturen ein. Neben der allgemeinen Resistenzsteigerung läßt sich bei blühenden Pflanzen eine Verschiebung des Schädigungsmaximums zu jüngeren Blättern hin nachweisen. Dagegen wurde aber auch bei anderen Versuchsobjekten gerade im Stadium der Blütenknospenbildung und der Blüte eine besondere Empfindlichkeit der Blätter aller Alterstufen gefunden (vgl. LEVITT 1959).

¹⁾ v.I mit dem Cytoplasma und den Plastiden der *Oe.argentinae*.

f) Nachkulturzeit

Um die günstigste Dauer der Nachkultur zu ermitteln, wurden vergleichbare Pflanzen von *Oe. berteriana* in der beschriebenen Weise (30 min, 45,0°C) behandelt. Die Schäden der Blätter wurden jeweils in Abständen von genau 24 Stunden nach Versuchsbeginn bestimmt, ohne diese dabei - wie sonst üblich - abzuschneiden. Noch zwei Tage nach Erhitzung im Wasserbad zeigten die Pflanzen keinerlei sichtbare Veränderungen. Erst nach drei Tagen machten sich Verfärbungen der einzelnen Blätter bemerkbar, die sich rasch ausbreiteten und die ganzen Pflanzen bis zu einer maximalen Schädigung am 8. Tag erfaßten. Da zu diesem Zeitpunkt nur etwa 90% der gesamten Blattfläche verändert waren, und die Schäden sich immer langsamer ausbreiteten, machte sich das Nachwachsen der ungeschädigten Blattbezirke bemerkbar, sodaß jetzt die meßbare Gesamtschädigung leicht abnahm (vgl. Abb. 6).

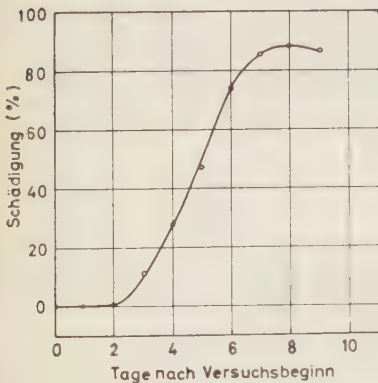


Abb. 6. Hitzeschädigung von *Oe. berteriana* 0 - 9 Tage nach der Temperaturbehandlung (= Versuchsbeginn). 30 min, 45,0°C; Mittelwerte der Gesamtschädigung von 5 Pflanzen.

g) Zusammenfassung

Folgende Versuchsanordnung erwies sich zur Bestimmung der Hitzeresistenz von *Raimannia-Oenotheren* als günstig: Erhitzungstemperaturen im Wasserbad zwischen 43,0 und 47,0°C bei einer Tauchzeit von 30 Minuten und einer Nachkulturdauer von 5 Tagen. Im Hinblick auf den Tagesgang der Hitzeresistenz müssen alle Versuche mit vegetativen Pflanzen zu ganz bestimmten Tageszeiten durchgeführt werden.

2. Das Verhalten verschiedener Raimannia-Oenotheren gegenüber hohen Temperaturen

a) Die Hitzeresistenz von *Oe.berteriana* und *Oe.odorata*

Die beiden Ausgangsarten *Oe.berteriana* und *Oe.odorata* unterscheiden sich deutlich in ihrem Habitus und in ihrem physiologischen Verhalten: *Oe.berteriana* bildet eine Rosette und blüht als obligatorische Langtagpflanze nur in Tageslängen von über 14 Stunden, während die fakultative Langtagpflanze *Oe.odorata* auch in Tageslängen unter 8 Stunden Blüten anlegt, wenn die Lichtintensität künstlich erhöht wird.



Abb. 7. Hitzeschädigung der Ausgangsformen *Oe.berteriana* (obere Reihe) und *Oe.odorata* (untere Reihe). Erhitzungstemperaturen zwischen 43,0 und 48,0°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$), Einwirkungs-dauer 30 Minuten, Auswertung nach genau 5 Tagen. Gleichartig behandelte Pflanzen stehen untereinander. *Oe.odorata* reagiert wesentlich empfindlicher als *Oe.berteriana*.

Die Ergebnisse der Hitzeresistenzuntersuchungen an den Ausgangsformen *Oe.berteriana* (B.I bert.Cyt., bert.Plant.) und *Oe.odorata* (v.I od.Cyt., od.Plant.) wurden in Abb. 7 photographisch belegt. Die Versuchspflanzen wurden jeweils 30 Minuten auf Temperaturen zwischen 43,0 und 48,0°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)

je Versuchsgruppe erhitzt und nach genau 5 Tagen ausgewertet. Es lassen sich folgende Ergebnisse feststellen: *Oe. berteriana* ist gegen hohe Temperaturen wesentlich resistenter als *Oe. odorata*. Nach 44,5°C-Behandlung zeigte *Oe. berteriana* nur sehr geringe Schäden, während *Oe. odorata*



Abb. 8 a

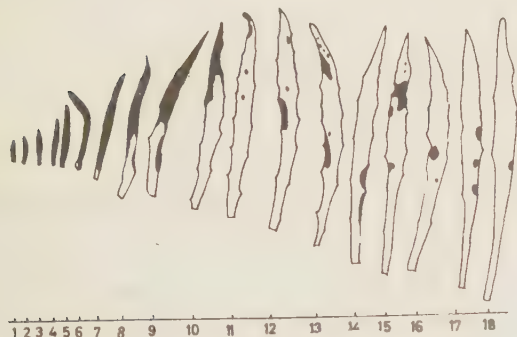


Abb. 8 b

Hitzeschädigung einzelner Blätter von *Oe. berteriana* (Abb. 8 a, 30 min, 45,0°C) und *Oe. odorata* (Abb. 8b, 30 min, 44,0°C). Die Blattumrisse und die geschädigten Flächen (schwarz) wurden auf Pergamentpapier durchgepaust. Die Skala gibt die Blattnummer an. Die nicht eingezeichneten Blätter Nr. 11 und 12 von *Oe. berteriana* waren 95% geschädigt.

annähernd vollständig vertrocknete. Durch die Erhöhung der Temperatur auf $45,0^{\circ}\text{C}$ machten sich stärkere Blattschädigungen auch bei *Oe.berteriana* bemerkbar, die bei $48,0^{\circ}\text{C}$ die ganzen Pflanzen erfaßten. Die kritische Temperaturspanne zwischen 0 und 100%iger Schädigung beträgt somit bei *Oe.berteriana* $3,5^{\circ}\text{C}$, bei *Oe.odorata* nur $2,0^{\circ}\text{C}$. Eine Temperatur von $43,0^{\circ}\text{C}$ für die Dauer von 30 Minuten hatte nämlich bei *Oe.odorata* kaum sichtbare Folgen, während durch $44,5^{\circ}\text{C}$ -Behandlung eine fast vollständige Schädigung eintrat.

Neben Unterschieden in der allgemeinen Empfindlichkeit der beiden Elternformen insbesondere hinsichtlich des wirksamen Temperaturbereiches traten aber auch graduelle Unterschiede im Schädigungsbild der einzelnen Blätter auf. In Abb. 8 a und b wurden die Blatturnrisse wiedergegeben und die jeweils geschädigten Flächen schwarz ausgezeichnet. Ein bestimmtes Versuchsprogramm (Abb. 8 a: 30 min, $45,0^{\circ}\text{C}$; Abb. 8 b: 30 min, $44,0^{\circ}\text{C}$; Auswertung nach 6 Tagen) ergab übereinstimmend mit den Vorversuchen ein Schädigungsmaximum in der Blattfolge, das für *Oe.berteriana* bei Blatt Nr. 11 und 12 lag, für *Oe. odorata* dagegen bei Blatt Nr. 1 bis 5. Junge *odorata*-Blätter werden durch hohe Temperatur wesentlich stärker geschädigt als Blätter gleichen Alters der *B.l bert.Cyt.*, *bert.Plant.* (= *Oe. berteriana*). Ältere Blätter verhalten sich umgekehrt (Nr. 8 bis 13). Auf Grund der deutlichen Unterschiede bei den Ausgangsformen war es berechtigt, die Bastarde zu untersuchen.

b) Der Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auf die Hitzeresistenz

Untersucht wurden hierfür die Komplexheterozygoten B.I, 1.v und B.v mit dem Cytoplasma und den Plastiden der *Oe.berteriana* bzw. der *Oe.odorata*, außerdem die Form 1.I bert.Cyt., bert.Plast. (vgl. Methode). In ihrem Habitus sowie ihrer photoperiodischen Reaktion und in anderen Merkmalen unterscheiden sich diese *Oenotheren* unterschiedlich stark.

b.1) B.I bert.Cyt., bert.Plast. und B.I od.Cyt., od.Plast.

Die beiden B.I-Formen sind im Habitus verglichen mit anderen Konstitutionen am deutlichsten verschieden: Mit bert.Cyt., bert.Plast. ist die B.I großwüchsig und kräftig, mit dunkelgrünen breiten Blättern, die wie bei *Oe.berteriana* stark gezackt sind; mit od.Cyt., od.Plast. ist die B.I anfangs schwächlich mit hellgrünen, später jedoch normalgrünen Blättern. Die B.I bert.Cyt., bert.Plast. kommt in Tageslängen unter 11 Stunden nicht mehr zur Blütenbildung, während die B.I mit dem Cytoplasma und den Plastiden der *Oe.odorata* auch im 8 Std.-Tag blüht.

In Abb. 9 wurden Habitus und Hitzeschädigung der beiden reziproken B.I-Formen photographisch festgehalten. Pflanzen, die vergleichbaren Bedingungen ausgesetzt waren, stehen untereinander. Klar läßt sich eine stärkere Schädigung der *Oenotheren* mit od.Cyt., od.Plast. erkennen (untere Reihe). Besonders deutlich trat dieser Effekt bei Temperaturen oberhalb von 44,0°C auf. Die kritische Temperaturspanne zwischen ungeschädigten und vollkommen geschädigten Pflanzen war für B.I bert.Cyt., bert.Plast. genau wie für B.1 bert.Cyt., bert.Plast. (= *Oe.berteriana*) sehr breit, während für B.I od.Cyt., od.Plast. der Umschlagsbereich nur 1,5°C betrug.

Der Einfluß der außerkaryotischen Konstitution läßt sich mit der beschriebenen Methode auch quantitativ bestimmen. Das Ergebnis für die einzelnen Blätter der beiden reziproken Komplexheterozygoten B.I wurde in Abb. 10 zusammengestellt. Der Schädigungsverlauf von B.I bert.Cyt., bert.Plast. ähnelt



Abb. 9. Hitzeschädigung der beiden reziproken B.I-Formen nach verschiedenen Erhitzungstemperaturen ($43,0 - 47,0^{\circ}\text{C}$). Einwirkungsdauer 30 Minuten; photographiert nach genau 5 Tagen Nachkultur. Obere Reihe: B.I bert.Cyt., bert.Plast.; untere Reihe: B.I od.Cyt., od.Plast.. Gleichartig behandelte Pflanzen stehen untereinander.

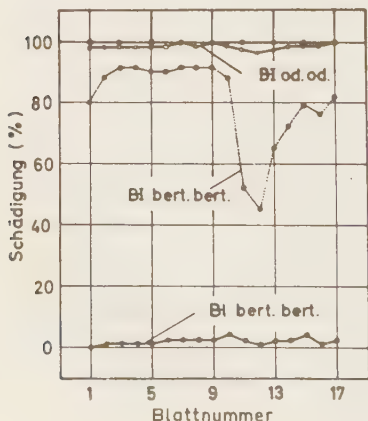


Abb. 10. Hitzeschädigung einzelner Blätter der beiden B.I-Formen (30 min, $44,5^{\circ}\text{C}$). Eingezeichnet wurden außerdem die Schädigungsprozente der B.l (= *Oe. berteriana*). Ordinate: Schädigung in Prozenten der Blattfläche.

dem der *Oe.berteriana*, während alle Blätter der B.I od.Cyt., od.Plast. vergleichsweise stärker geschädigt waren. Am deutlichsten unterschieden sich die Blätter Nr. 12 mit 97% bzw. mit 45%. B.I bert.Cyt., bert.Plast. zeigte ein Schädigungsmaximum zwischen Blatt Nr. 3 und 9, einen Abfall der Schädigung zu Blatt Nr. 12 und einen erneuten Anstieg bei alten Blättern. Die Gesamtschädigung (30 min, 44,7°C) der B.I bert.Cyt., bert.Plast. mit $80,5 \pm 1,1\%$ ($n = 20$) ist signifikant ($P = 0,001$) von der der B.I od.Cyt., od.Plast. mit $99,1 \pm 0,5\%$ ($n = 20$) unterschieden.

b.2) l.v bert.Cyt., bert.Plast. und l.v od.Cyt., od.Plast.

Die Rosettenblätter dieser Formen unterscheiden sich: Die der l.v bert.Cyt., bert.Plast. sind kürzer und breiter als die der l.v od.Cyt., od.Plast.. Beide Formen blühen im 8 Std.-Tag, jedoch ist die Anzahl der bis zur ersten Blüte gebildeten Blätter bzw. die Zeit in Tagen bis zum Sichtbarwerden der Blütenknospen bei Konstitutionen mit *berteriana*-Cytoplasma und *berteriana*-Plastiden größer bzw. länger als bei der reziproken Form.

Die Untersuchungen der beiden l.v-Oenotheren bestätigten die Ergebnisse, die an den Komplexheterozygoten B.I gewonnen wurden: Pflanzen mit *odorata*-Cytoplasma und *odorata*-Plastiden werden stärker geschädigt als vergleichbare reziproke Bastarde. Die Absolutwerte der Hitzeschädigung für die l.v-Formen lagen mit $66,8 \pm 2,8\%$ ($n = 40$) - bert.Cyt., bert.Plast. - bzw. mit $91,6 \pm 1,2\%$ ($n = 39$) - od.Cyt., od.Plast. - unter denen der B.I-Oenotheren, zeigen aber besonders deutlich den Einfluß der verschiedenen Plasmen ($P = 0,001$). Die Form l.v bert.Cyt., bert.Plast. hatte bei Blatt Nr. 8 ein

ausgeprägtes Schädigungsmaximum. In Abb. 11 wurde die Hitzeschädigung der einzelnen Blätter der beiden Komplexheterozygoten l.v dargestellt. Besonders junge und alte Blätter der reziproken Konstitutionen unterscheiden sich in ihrer Hitzeresistenz.

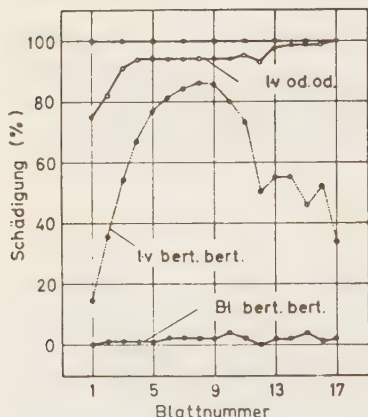


Abb. 11. Wie Abb. 10, jedoch für die beiden l.v-Formen.

b.3) B.v bert.Cyt.,bert.Plast. und B.v od.Cyt.,od.Plast.

Die beiden B.v-Oenotheren unterscheiden sich morphologisch und physiologisch wenig. Bei gleicher Länge sind die Blätter von B.v bert.Cyt.,bert.Plast. etwas breiter als die der B.v od.Cyt.,od.Plast.. Beide Formen sind obligatorische Langtagpflanzen, die in ihrem photoperiodischen Verhalten dem der *Oe.berteriana* entsprechen. Die Blütenknospen werden allerdings bei der B.v od.Cyt.,od.Plast. früher sichtbar, und die Zahl der Blätter zwischen Versuchsbeginn und erster Blüte ist kleiner als bei dem reziproken Bastard, sodaß statistisch sicherbare Unterschiede in der Blütenbildung vorliegen.

Cytoplasma und Plastiden modifizieren gleichsinnig wie bei den anderen Konstitutionen die Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen. Bert.Cyt.,bert.Plast. bewirkten eine

Steigerung der Resistenz, od.Cyt., od.Plast. dagegen führten zu einer Erhöhung der Empfindlichkeit bei *Oenotheren* mit den Genomen B.v. Aus Abb. 12 lassen sich Unterschiede in der Hitzeresistenz entnehmen, die auf verschiedenen Cytoplasma- und Plastidenbesitz zurückzuführen sind. Im kritischen Temperaturbereich um 44,5 und 45,0°C waren die Unterschiede am deutlichsten: Alte Blätter der B.v bert.Cyt., bert.Plast. entsprachen im Aussehen der unbehandelten Kontrolle, die der B.v od.Cyt., od.Plast. waren dagegen schon erheblich geschädigt.



Abb. 12. Hitzeschädigung der beiden reziproken B.v-Formen nach verschiedenen Erhitzungstemperaturen (43,0 - 46,0°C). Obere Reihe: B.v bert.Cyt., bert.Plast.; untere Reihe: B.v od.Cyt., od.Plast.; sonst wie Abb. 9.

Die Schädigung der einzelnen Blätter wurde in Abb. 13 dargestellt. Die reziproken B.v-Formen unterschieden sich nicht stark, jedoch reagierten besonders Blätter ab Nr. 13 verschieden, sodaß sich die Gesamtschädigungen mit $55,6 \pm 1,6\%$

($n = 54$) für B.v bert.Cyt., bert.Plast. und mit $71,9 \pm 1,8\%$ ($n = 46$) für B.v od.Cyt., od.Plast. statistisch gut gegeneinander absichern lassen ($P = 0,001$).

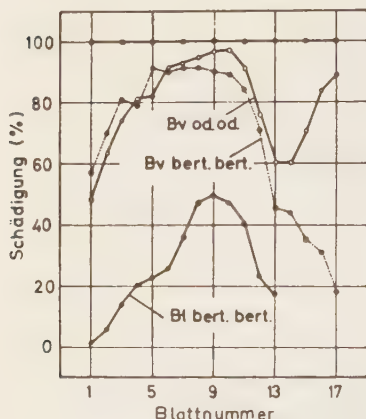


Abb. 13. Wie Abb. 10, jedoch für die beiden B.v (30 min, $44,8^{\circ}\text{C}$).

b.4) l.I bert.Cyt., bert.Plast.

Obwohl die Vergleichsform mit odorata-Cytoplasma und odorata-Plastiden nicht vorlag, wurde die l.I bert.Cyt., bert.Plast. zum Vergleich in die Untersuchungen mit einbezogen. Sie besitzt große breite Blätter, die aus einer Rosette entspringen. In Tageslängen von 8 - 24 Stunden legt sie Blüten an und gleicht hinsichtlich dieses Verhaltens der *Oe.odorata*.

Diese Form nahm mit einer Gesamtschädigung von $75,4 \pm 1,9\%$ ($n = 29$) eine Mittelstellung zwischen *Oe.berteriana* und *Oe.odorata* ein. Durch die Ausbildung eines extremen Resistenzminimums bei Blatt Nr. 8 und des breiten kritischen Temperaturbereiches machte sich allerdings der Besitz der extrachromosomalen Konstitution der *Oe.berteriana* (B.l bert.Cyt., bert.Plast.) bemerkbar.

b.5) Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche mit den Komplexheterozygoten B.I, l.v und B.v jeweils mit dem Cytoplasma und den Plastiden der *Oe.berteriana* bzw. der *Oe.odorata* findet sich in Abb. 14. Außerdem wurden die Werte für die Ausgangsformen B.l bert.Cyt.,bert.Plast. (= *Oe.berteriana*) und v.I od.Cyt.,od.Plast. (= *Oe.odorata*) eingetragen.

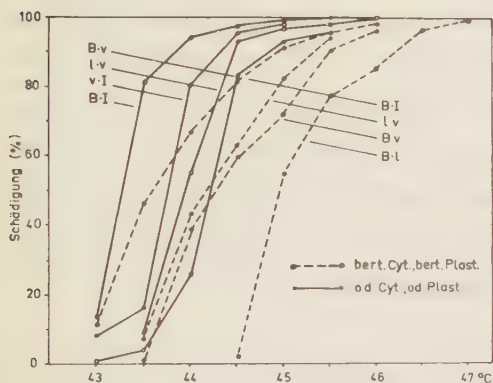


Abb. 14. Der Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auf die Hitzeempfindlichkeit. Allein durch den Besitz von odorata-Cytoplasma und odorata-Plastiden reagieren Bastarde bei gleichem Genotypus empfindlicher gegenüber hohen Temperaturen.

Cytoplasmon und Plastom beeinflussen bei gleichem Genotypus (B.I, l.v und B.v) die Hitzeresistenz. Bert.Cyt.,bert.Plast. bewirken eine Erhöhung, Cytoplasma und Plastiden der *Oe.odorata* eine Erniedrigung der Widerstandsfähigkeit gegenüber hohen Temperaturen. Außerdem läßt sich aus Abb. 14 entnehmen, daß alle Schädigungskurven der Formen mit od.Cyt.,od.Plast. steiler verlaufen als diejenigen mit bert.Cyt.,bert.Plast.. Das bedeutet, daß durch die extrachromosomale Konstitution der *Oe.odorata* außer einer allgemeinen Resistenzverminderung die Schädigung in einem engeren kritischen Temperaturbereich erfolgt als durch Cytoplasma und Plastiden der *Oe.berteriana*. Damit konnte gezeigt werden, daß ein bestimmter Plasmotypus

verbunden mit vollständigen Cytoplasma- und Plasmalemma-
vesikeln immer in gleicher Richtung orientiert.

3. Die Frage einer Trennung von Cytoplasma- und Plasmalemma- vesikeln

Hierzu wurden die Komplexe B.I der *O. brachyura* und v.I
der *O. edwardsi* untersucht mit verschiedenen elektronenoptischen
Konstruktionen untersucht. Es ist möglich diese Komplexe ge-
woll mit dem Cytoplasma als auch mit dem Plasmalemma der einen
oder der anderen Abgrenzung zu konstruieren. Die in folgen-
den Abbildungen dargestellten Formen sind in Tabelle 1
(S. 56) enthalten (vgl. hierzu die Zusammenfassungen von
KREYLL 1963 und KASCHANN 1964).

In mehreren Untersuchungen wurde gerade bei diesen Formen
die Trennung von Cytoplasma- und Plasmalemma-vesikeln
nicht gemacht (z. B. SCHWEDER 1960 S. 1967, B. SCHWEDER 1962,
vgl. auch KREYLL 1963). Damit hat man sich dem Cytoplasma
einer spezifischen genetischen Einheit, sondern auch das
Plasmalemma. Diese Vesikel sind nicht nur in der Größe
mit, die auf sie selbst beschränkt sind, sondern auch viele
anderen ihrer selbst ähnliche Merkmale (vgl. KREYLL 1963).

Neben der *O. edwardsi* (v.I od. Cyt., od. Plasm.) wurden die
Formen v.I der *O. brachyura*, od. Plasm. und v.I der *O. brachyura*,
od. Cyt., untersucht. Die beiden ersten untersuchten sind genetisch
nur im Cytoplasma, die zweite und dritte Form allein durch
das unvollständige Plasmalemma der einen gleichen
Konstitution. Wenn das Cytoplasma für die Differenzierung
verantwortlich wäre, müßten sich die beiden ersten Komplexe
in Strukturgehalt unterscheiden, während Form 2 und 3 iden-
tisch wären. Sind allein die Plasmalemma maßgebend beteiligt,

so wäre die Empfindlichkeit der v.I od.Cyt.,od.Plast. und der v.I bert.Cyt.,od.Plast. gleich, die der v.I bert.Cyt., od.Plast. und der v.I bert.Cyt.,bert.Plast. aber verschieden. Eine dritte Denkmöglichkeit ergibt sich bei Beteiligung beider extrachromosomaler Komponenten: Alle drei v.I-Konstitutionen müßten sich abgestuft unterscheiden.

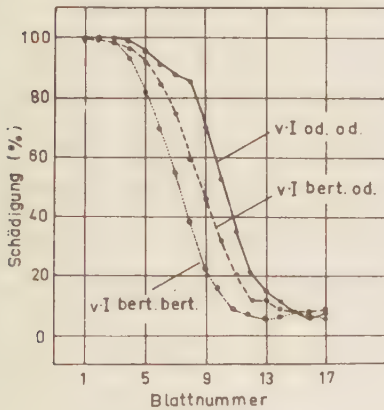


Abb. 15. Der Einfluß des Cytoplasmas und der Plastiden auf die Hitzeschädigung der verschiedenen v.I-Formen nach 30-minütiger Behandlung bei 43,8°C. Sowohl das Cytoplasma als auch die Plastiden verschieben die Hitzeresistenz bestimmter Blätter in gleicher Richtung.

Die Ergebnisse der Hitzeresistenzbestimmungen an den v.I-Formen wurden in Abb. 15 und 16 zusammengestellt. Der Grad der Schädigung in Prozenten der Blattfläche wurde für die einzelnen Konstitutionen als Mittelwerte aufgetragen (n = 16 bis 19). Eine Erhitzung auf 43,8°C für 30 Minuten bewirkte (Abb. 15) bei allen v.I-Formen im Prinzip das Schädigungsverhalten, das schon für *Oe.odorata* besprochen wurde (vgl. z.B. Abb. 8 b). Junge Blätter wurden vollständig, alte Blätter ganz gering geschädigt, mittlere nahmen einen Zwischenwert an. Die einzelnen Kurven für die Konstitutionen unterschieden sich jedoch in ihrer Lage. Bezogen auf ein bestimmtes Blattalter (z.B. Blatt Nr. 9) traten ganz verschie-

dene Schädigungsprozente auf: Für v.I od.Cyt.,od.Plast. 71%, für v.I bert.Cyt.,od.Plast. 49% und für v.I bert.Cyt.,bert. Plast. 22%. Die Gesamtschädigung als Maß für die Empfindlichkeit der ganzen Pflanze wurde bestimmt - gleiche Reihenfolge wie oben - mit $54,2 \pm 1,2\%$ ($n = 19$), $49,9 \pm 1,1\%$ ($n = 16$) und $38,1 \pm 1,5\%$ ($n = 17$). Die Werte unterscheiden sich in allen Fällen signifikant ($P < 0,001$). Hieraus folgt, daß nicht die Konstitution des Cytoplasmas allein oder die der Plastiden die Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen modifizieren können, sondern beide gemeinsam wirksam sind. Eine gewisse Trennung der Einflüsse der außerkaryotischen Komponenten auf die Hitzeresistenz läßt sich aber doch nachweisen, da beide eine spezifische Wirkung in gleicher Richtung ausüben.

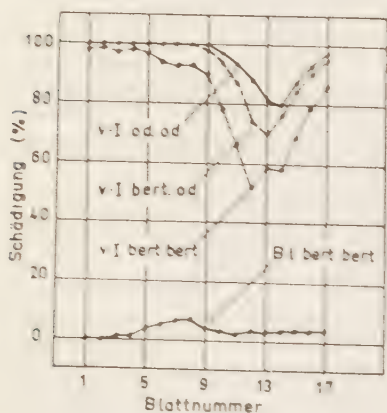


Abb. 16. Wie Abb. 15, jedoch nach 30-minütiger Tauchzeit bei $44,5^{\circ}\text{C}$. Durch Cytoplasma und Plastiden der *Oe. berteriana* (B.I bert.Cyt.,bert. Plast.) wird die Hitzeresistenz der verschiedenen v.I-Formen abgestuft erhöht.

Erhöhte man die Tauchtemperatur auf $44,5^{\circ}\text{C}$ (Abb. 16) so stieg die Schädigung für alle v.I-Formen erheblich an, die genannten Unterschiede blieben jedoch erhalten. Bei einer Gesamtschädigung der v.I od.Cyt.,od.Plast. von $95,6 \pm 1,0\%$ ($n = 17$) zeigten

die anderen Konstitutionen eine abgestuft zunehmende Resistenz (v.I bert.Cyt.,od.Plast.: $90,2 \pm 1,1\%$ ($n = 14$); v.I bert.Cyt.,bert.Plast.: $81,4 \pm 2,1\%$ ($n = 18$)), aus der die spezifische Beteiligung beider auBerkaryotischer Komponenten abgeleitet werden kann. Eingezeichnet wurden zum Vergleich die Schädigungsprozente der *Oe.berteriana*.

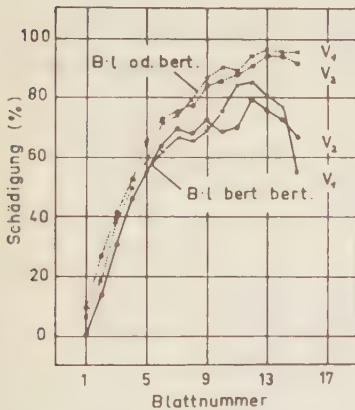


Abb. 17. Die Wirkung des odorata-Cytoplasmas auf die Hitzeresistenz der *Oe.berteriana*. Angegeben wurden die Schädigungsprozente einzelner Blätter aus zwei unabhängigen Versuchsreihen (V_1 und V_2). 30 min, $45,2^\circ\text{C}$.

Die Ergebnisse konnten durch die Untersuchung der beiden B.l-Oenotheren bestätigt werden (vgl. Tabelle 1). Der in Abb. 17 dargestellte Schädungsverlauf der Blätter entspricht dem für *Oe.berteriana* oben angegebenen (vgl. Abb. 3). Jedes vergleichbare Blatt der beiden B.l-Konstitutionen unterscheidet sich in seiner Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen (angegeben wurden die Mittelwerte von zwei unabhängigen Versuchsreihen). Allein durch odorata-Cytoplasma war die Gesamtschädigung der B.l bert.Cyt.,bert.Plast. von $57,4 \pm 1,8\%$ ($n = 11$) auf $70,4 \pm 1,0\%$ ($n = 20$) der B.l od.Cyt.,bert.Plast. erhöht (30 min, $45,2^\circ\text{C}$).

In Abb. 18 wurden die Schädigungsprozente der beiden B.l-
Formen mit denen der Oe.odorata bei verschiedenen Erhitzungs-
temperaturen (44,5, 45,0 und 45,5°C) verglichen. Die Tendenz
des odorata-Cytoplasmas, eine stärkere Empfindlichkeit zu
bewirken, war bei allen Temperaturen festzustellen. Die
größten Unterschiede traten, entsprechend der Erwartung, bei
mittleren Schädigungsgraden auf, z.B. nach Behandlung mit
45,0°C. Die Gesamtschädigung der B.l od.Cyt., bert.Plast.
näherete sich allein bedingt durch odorata-Cytoplasma dem Ver-
halten der Oe.odorata.

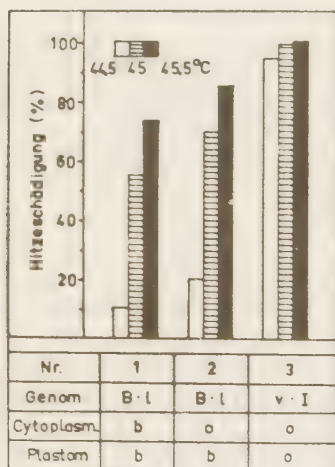


Abb. 18. Vergleich der Gesamtschädigungen der beiden B.l-Formen mit denen der Oe.odorata (v.I) bei verschiedenen Erhitzungstemperaturen (44,5, 45,0 bzw. 45,5°C). Allein durch das odorata-Cytoplasma wird die Empfindlichkeit erhöht.

d) Die Genomabhängigkeit der Hitzeresistenz

Nach der Untersuchung der verschiedenen B.l- und v.I-Formen und der Bastarde B.I, l.v, B.v und l.I sollen nun die Chromosomenkomplexe B, l, v und I in ihrer Wirkung auf die Hitzeresistenz betrachtet werden. Da Cytoplasma und Plastiden einen

gerichteten Einfluß ausüben, dürfen nur Genotypen in Verbindung mit identischer außerkaryotischer Konstitution verglichen werden.

Tabelle 2. Der Einfluß der Oenotheren-Komplexe B, l, v und I auf die Hitzeresistenz. Angegeben wurde die Hitzeschädigung in Prozenten der gesamten Blattfläche von Komplexheterozygoten, die sich jeweils nur in einem Komplex unterscheiden. 30 min, 44,7°C. Mittelwerte ($\bar{x}$) mit Standardfehler ($s_{\bar{x}}$).

Konstitution	bert.Cyt., bert.Plast.		od.Cyt., od.Plast.	
	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
B.I	20	80,5 $\pm$ 1,1%	20	99,1 $\pm$ 0,5%
B.v	54	55,6 $\pm$ 1,6%	46	71,9 $\pm$ 1,8%
B.l	26	28,6 $\pm$ 3,0%		-
v.I		-	28	98,0 $\pm$ 0,3%
v.l	43	66,8 $\pm$ 2,8%	39	91,6 $\pm$ 1,2%
v.B	54	55,6 $\pm$ 1,6%	46	71,9 $\pm$ 1,8%
l.I	29	75,4 $\pm$ 1,9%		-
l.v	43	66,8 $\pm$ 2,8%	39	91,6 $\pm$ 1,2%
l.B	26	28,6 $\pm$ 3,0%		-
I.B	20	80,5 $\pm$ 1,1%	20	99,1 $\pm$ 0,5%
I.v		-	28	98,0 $\pm$ 0,3%
I.l	29	75,4 $\pm$ 1,9%		-

In Tabelle 2 wurden die Gesamtschädigungen der untersuchten Kombinationen zusammengestellt. Vergleichbare Oenotheren enthalten einen Chromosomenkomplex gemeinsam und sind nach zunehmender Hitzeresistenz (= abnehmender Gesamtschädigung) angeordnet. Aus der Aufeinanderfolge der zweiten Komplexe läßt sich nachstehende Reihenfolge der Wirksamkeit ableiten:

I - v - l - B . Der Komplex I bedingt hohe Empfindlichkeit gegenüber Extremtemperaturen, der Komplex B eine relative Unempfindlichkeit. v und l liegen in ihrer Wirkung zwischen I und B. Obwohl sämtliche Kombinationen mit dem Chromosomenkomplex I verbunden mit einem beliebigen Zweitkomplex und beliebiger extrachromosomaler Konstitution alle anderen Formen an Empfindlichkeit übertreffen, ist doch in der Reaktion der Bastarde l.v, B.v und B.l die abgestufte Wirkung der Komplexe abzulesen. Alle Formen, die den Komplex I nicht enthalten, sind im Vergleich zu den I.v, I.l und I.B-Oenotheren wesentlich resistenter. Dies kommt am deutlichsten im Verhalten der unempfindlichen *Oe. berteriana* (B.l) zum Ausdruck. Die angegebene Reihenfolge der Komplexe stimmt sowohl für die Konstitutionen mit bert.Cyt., bert.Plast. als auch für Formen mit od.Cyt., od.Plast. überein. Wenn der Chromosomenkomplex I als Erstkomplex gewählt wird, kann die Reihenfolge der Wirksamkeit nicht erfaßt werden, da in diesem Falle die Hitzeresistenz unter den gewählten Bedingungen sehr gering ist.

Die Komplexreihenfolge I - v - l - B wird bestätigt durch den starken Einfluß der außerkaryotischen Konstitution in Formen, die eine Mittelstellung einnehmen (l.v, B.I) oder in solchen, die den Komplex I nicht enthalten (B.v, l.v). Eine Aufschlüsselung in die Wirkung einzelner Chromosomen ist mit den vorliegenden Versuchsobjekten nicht möglich. Derartige Analysen könnten jedoch mit Formen durchgeführt werden, bei denen Chromosomen verschiedener Komplexe gegeneinander ausgetauscht wurden, wie dies z.B. bei einer B.II-Oenothera der Fall ist (J.SCHWEMMLE 1938 b, B.SCHWEMMLE 1962).

3. Hitzeresistenzuntersuchungen an Keimlingen

a) Versuche mit verschiedenen Formen

In Vorversuchen hatte sich ergeben, daß der Chlorophyllgehalt mit zunehmender Temperatur in gewissen Grenzen linear abnimmt. Die Proportionalität zwischen Pigmentmenge und Temperatur bei vorgegebener Einwirkungsdauer, bzw. bei konstanter Temperatur und verschieden langer Erhitzung, wurde z.B. bei 15 Minuten und 47,0°C erreicht. Da die Hitzeschädigung im allgemeinen mit steigender Temperatur zunimmt (WAGENBRETH 1965), konnte die Abnahme des Chlorophyllgehaltes durch Hitzeeinwirkung, bezogen auf eine unbehandelte Kontrolle, direkt als Maß für die Resistenz angesehen werden (vgl. LOMAGIN and ANTROPOVA 1966).

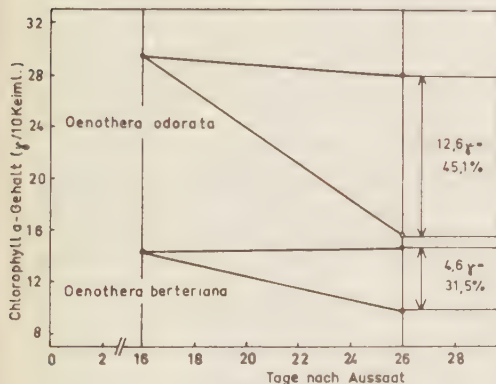


Abb. 19. Chlorophyll a-Gehalt (γ /10 Keimlinge) bei erhitzten und unbehandelten *Oenotheren*-Keimlingen. Sowohl 16 (Kontrolle I) als auch 26 (Kontrolle II) Tage nach Aussaat unterschied sich der Chlorophyllgehalt der beiden Arten. Durch Hitzeeinwirkung (15min, 47°C) erfolgte eine Abnahme um 31,5% (*Oe. berteriana*) bzw. um 45,1% (*Oe. odorata*).

In Abb. 19 wurden die Chlorophyllbestimmungen für die Keimlinge von *Oe. berteriana* und von *Oe. odorata* zusammengefaßt. Der Chlorophyll a-Gehalt z.B. (in γ /10 Keimlingen) unterschied sich 16 Tage nach Aussaat für die beiden Arten erheblich (Kontrolle I). 10 Keimlinge der *Oe. odorata* (29,6 γ) enthielten über doppelt soviel Chlorophyll a wie die gleiche Anzahl der *Oe. berteriana* (13,3 γ). Dies ist auf die unterschiedliche Größe der Pflänzchen bzw. auf den verschiedenen Vorrat an Endosperm in den Samen zurückzuführen (die Samen von *Oe. odorata* sind größer). Um eine sichere Aussage über den Schädigungsgrad

der verschiedenen Konstitutionen machen zu können, war es deshalb unbedingt nötig gleichzeitig mit der Bestimmung der hitzegeschädigten Versuchspflanzen 10 Tage später - also 26 Tage nach Aussaat - eine weitere Kontrolle (Kontrolle II) zu bestimmen. Diese gab außerdem Auskunft über die Veränderung der Pigmentmenge im genannten Zeitraum: Zunahme auf 14,6% für *Oe.berteriana*, Abnahme auf 28,0% bei *Oe.odorata* (jeweils für 10 Keimlinge). Der Chlorophyllgehalt der hitzebehandelten Versuchspflanzen wurde durch die Einwirkung der hohen Temperatur beträchtlich vermindert. Vergleicht man die erhaltenen Werte mit denen der Kontrolle II und drückt die Differenz in Prozenten der Kontrolle aus, so erhält man das gesuchte Maß für den Schädigungsgrad. Die prozentuale Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes von *Oe.berteriana* betrug 31,5%, von *Oe.odorata* 45,1%, sodaß sich die beiden Arten

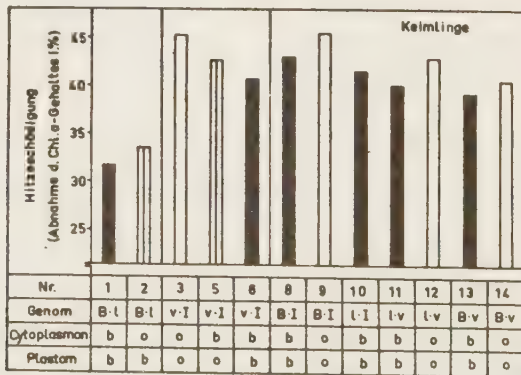


Abb. 20. Hitzeschädigung von *Oenothera*-Keimlingen nach vergleichbarer Temperaturbehandlung (15 min, 47,0°C). Die Schädigung wurde angegeben als Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes in Prozenten der unbehandelten Kontrolle. Formen mit der extrachromosomalen Konstitution der *Oe.berteriana* (schwarz) sind im Vergleich zu den reziproken Bastarden geringer geschädigt.

auch nach dieser Bestimmungsmethode in ihrer Hitzeresistenz unterschieden. Übereinstimmend mit den Ergebnissen an älteren Pflanzen konnte gezeigt werden, daß *Oe.odorata* empfindlicher gegenüber hohen Temperaturen reagierte als *Oe.berteriana*.

Die Ergebnisse der Versuche mit den Keimlingen der Bastarde wurden in Abb. 20 zusammengestellt. Dabei wurde die Schädigung angegeben z.B. als Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes in Prozenten der unbehandelten Kontrolle. Alle anderen bestimmten Pigmente zeigten im Prinzip das gleiche Ergebnis. Die beiden Ausgangsformen (*B.l bert.Cyt.,bert.Plast.*) (*v.I od.Cyt.,od.Plast.*) und ihre Bastarde unterschieden sich abgestuft. Mit der extrachromosomalen Konstitution der *Oe.berteriana* zeigten Formen mit gleichem Genotypus eine geringere Abnahme des Chlorophyllgehaltes als solche mit *odorata*-Cytoplasma und *odorata*-Plastiden. Der gerichtete Unterschied war für vergleichbare *Oenotheren* statistisch sicherbar, mit Ausnahme der beiden *B.v*-Formen, bei denen aber immerhin die Tendenz der Erwartung entsprach.

Mit Hilfe der verschiedenen *B.l*- und *v.I*-Konstitutionen (vgl. Tabelle 1) ließ sich die Wirkung von Cytoplasma und Plastiden auch mit dieser Methode bis zu einem gewissen Grade aufgliedern. Allein durch *odorata*-Cytoplasma erhöhte sich die Schädigung der *B.l od.Cyt.,bert.Plast.* im Vergleich zu *Oe.berteriana* (*B.l bert.Cyt.,bert.Plast.*). Durch *berteriana*-Cytoplasma wurde die Resistenz der *v.I bert.Cyt.,od.Plast.* im Vergleich zu *Oe.odorata* (*v.I od.Cyt.,od.Plast.*) erhöht und durch *berteriana*-Plastiden in der *v.I bert.Cyt.,bert.Plast.* noch

weiter gesteigert. Damit wurden die durch Hitzeresistenzbestimmungen an älteren Pflanzen gewonnenen Ergebnisse durch Befunde an Keimlingen mit anderer Methode bestätigt.

b) Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz

Wie in Abb. 4 gezeigt wurde, ist bei *Oenotheren* mit tagesperiodischen Unterschieden in der Hitzeempfindlichkeit zu rechnen. Es war zu erwarten, daß sich die Schwankungen auch unter konstanten Bedingungen weiterverfolgen lassen. Hierfür wurden entsprechend dem in Abb. 19 bereits gegebenen Schema die Bestimmungen in dreistündigen Abständen durchgeführt. Aus der prozentualen Abnahme der Pigmentmenge nach Hitzebehandlung zu jeder Zeit erhält man ein Maß für die Resistenzschwankung.

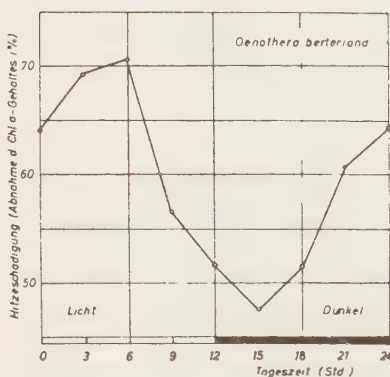


Abb. 21. Tagesperiodische Schwankung der Hitzeresistenz im Licht-Dunkelwechsel bei Keimlingen der *Oe. berteriana*. Ordinate: Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes nach Hitzebehandlung (15 min, 47,4°C) in Prozenten der Kontrolle.

Das Ergebnis für einen Tagesgang (12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsel) ist für *Oe. berteriana* in Abb. 21 wiedergegeben. Die Hitzeschädigung von Keimlingen änderte sich tagesperiodisch.

In der Mitte der Lichtzeit reagierten die Keimlinge am empfindlichsten (Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes 71%), zu Beginn der Dunkelphase waren sie am widerstandsfähigsten gegenüber hohen Temperaturen (Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes 45%). Die einzelnen Meßwerte ließen sich zu einer Kurve verbinden, wobei der Anstieg bzw. der Abfall schon vor dem Übergang der Lichtphasen erfolgte. Maximum und Minimum sind signifikant verschieden. Da sich jedoch auch bei den Kontrollen die Chlorophyllmengen änderten, wurden in Abb. 22 die tagesperiodischen Schwankungen des Chlorophyll a-Gehaltes in 10 Keimlingen von unbehandelten und hitzegeschädigten Versuchspflanzen (Keimlinge von *Oe. berteriana*) verglichen.

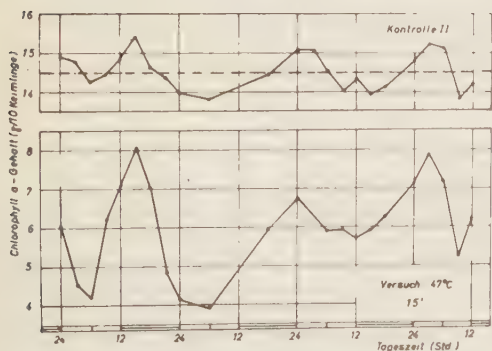


Abb. 22. Endogen-tagesperiodische Änderung im Chlorophyll a-Gehalt bei unbehandelten (Kontrolle) und hitzegeschädigten Keimlingen von *Oe. berteriana*. Abszisse: Tageszeit in Stunden eines Licht-Dunkelwechsels und anschließendem Dauerlicht.

Daß die Fähigkeit zur Chlorophyllbildung tagesperiodisch schwankt, wurde u.a. von CLAUSS und B.SCHWEMMLE (1959) gezeigt. Bei *Perilla ocymoides* - Keimlingen wiesen auch MITRAKOS, BÜNNING und EBERHARDT (1957) endogen gesteuerte Schwankungen des Chlorophyllgehaltes nach. Dabei wurde die Differenz zwischen Tag- und Nachtextremen im Licht-Dunkelwechsel und anschließendem Dauerlicht mit 9,5% bestimmt. Der größte gefundene Unterschied bei diesen Versuchen betrug 19,5%, der geringste 4,5%.

Die Schwankung der Plastidenpigmentmenge wurde z.B. für *Oe. berteriana* getrennt nach Chlorophyll a, Chlorophyll b und Gesamtcarotinoiden bestimmt. Als Beispiel wurde die tagesperiodische Änderung des Chlorophyll a-Gehaltes wiedergegeben (Abb. 22). Die größte aufgetretene Abweichung der Maxima und Minima betrug in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von MITRAKOS, BÜNNING und EBERHARDT (1957) nur etwa 10% (maximale Abweichung während eines Versuches z.B. 13,9% bis 15,4% /10 Keimlinge). Nach Behandlung mit hohen Temperaturen (15 min, 47,4°C) nahm die Pigmentmenge vom Kontrollniveau ausgehend stark ab und erreichte je nach Tageszeit der Versuchsdurchführung unterschiedliche Werte zwischen 3,9% und 8,0% /10 Keimlinge. Die maximale Abweichung war hierbei bis zu 50%, wobei Maxima und Minima der Schwankung sich auch im Dauerlicht signifikant unterscheiden ($P < 0,001$).

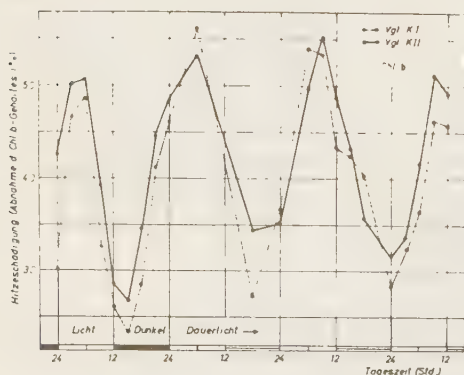


Abb. 23. Endogen-tagesperiodische Schwankung der Hitze-resistenz bei Keimlingen der *Oe. berteriana*. Abszisse: wie Abb. 22. Ordinate: Hitzeschädigung angegeben als Abnahme des Chlorophyll a-Gehaltes in Prozenten der unbehandelten Kontrollen.

Gibt man die Abnahme des Pigmentgehaltes in Prozenten der Kontrolle im Licht-Dunkelwechsel und im anschließenden Dauerlicht an, so erhält man z.B. für Chlorophyll b die in Abb. 23

dargestellten Kurven (Oe.berteriana). Für alle anderen bestimmten Pigmente ergab sich ein ähnlicher Verlauf. Im Dauerlicht setzte sich die Hitzeresistenzschwankung in gleicher Phasenlage fort, wobei anfangs Übergangszyklen ("transients") auftraten, sodaß im gewählten Versuchszeitraum (60 Stunden Dauerlicht) die Spontanperiode noch nicht sicher ermittelt werden konnte. Maxima und Minima lagen stets an fast gleicher Stelle, unabhängig davon, welche Kontrolle als Bezug gewählt wurde (vgl. Methode). Auf Grund dieser Ergebnisse war es wünschenswert, noch ein anderes Merkmal der circadianen Rhythmik zur Analyse heranzuziehen, mit dem es möglich war, die genetische Steuerung der endogen-tagesperiodischen Schwankungen zu untersuchen.

B) Versuche zur Genetik der circadianen Rhythmik

1. Methode

Wie viele andere Pflanzen zeigen Raimannia-Oenotheren tagesperiodische Blattbewegungen. Und zwar senken sich stark wachsende junge Blätter zu Beginn der Lichtphase (Öffnung), um sich im Dunkeln steil zu erheben. Dabei nähern sich die Spreiten in der Mitte der Dunkelzeit so stark, daß nur noch die Unterseiten sichtbar sind (Schließung). Die Bewegungsamplitude beträgt mehrere Zentimeter. Unter konstanten Bedingungen kann die Schwingung einige Wochen weiterverfolgt werden.

Abb. 24 zeigt die Blattstellung von *Oe. berteriana* im Dauerlicht nach vorangegangenen Licht-Dunkelwechsel im Abstand von 12 Stunden. Damit war ein "Uhrzeiger" der circadianen Rhythmik gefunden, der methodisch einfach zugänglich ist und an dem die genetische Analyse ansetzen konnte.

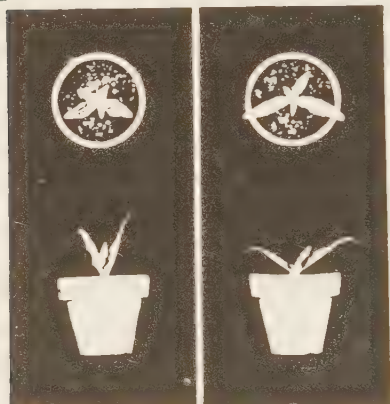


Abb. 24. Blattstellung von *Oe. berteriana* im Abstand von 12 Stunden unter konstanten Bedingungen im Dauerlicht photographiert. Links "Tag-", rechts "Nachtstellung".

Um Übergangszyklen zu vermeiden, wurden junge vegetative Pflanzen vor Versuchsbeginn mindestens drei Tage in Klimakammern einem definierten Licht-Dunkelwechsel (meist 12:12 Std.-Licht-Dunkelwechsel) und der jeweiligen Versuchstemperatur ausgesetzt. Anschließend wurden die verschiedenen genetischen Konstitutionen gleichzeitig unter konstanten Dauerlichtbedingungen untersucht (Lichtintensität $13\,000\text{ erg/cm}^2\text{.sec}$, Osram Leuchtstoffröhren L 15 und 25 im Verhältnis 1:1, Temperaturschwankung $\pm 0,5^\circ\text{C}$). Die Registrierung erfolgte in der üblichen Weise direkt durch Hebelübertragung auf berußte Kymographen und photographisch mit einer automatischen Kamera. Im letzteren Falle wurde unter dem Mikroskop die auf dem Film festgehaltene Stellung der Blattspitze mit einem Mikrometerokular bestimmt. Gemessen wurde der Ordinatenwert in Skalenteilen bezogen auf eine beliebige, jedoch für jeden Versuch konstante Nulllinie. In den Ergebnissen fanden nur sog. "steady-state-Perioden" konstanter Länge Berücksichtigung. Die Versuche wurden als Parallelen mehrmals in den Jahren 1965 und 1966 zu verschiedenen Jahreszeiten reproduziert.

2. Die Blattbewegungen von *Oe.berteriana* und *Oe.odorata*

Zuerst mußte geprüft werden, ob sich die Ausgangsformen *Oe.berteriana* und *Oe.odorata* in ihrer freilaufenden Rhythmik unterschieden. In Abb. 25 a und b wurde der Bewegungsverlauf der beiden Arten im Dauerlicht dargestellt. Eine endogen-

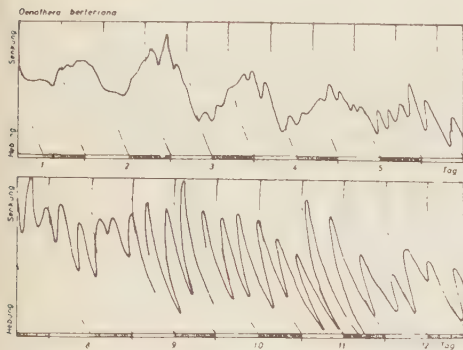


Abb. 25 a.

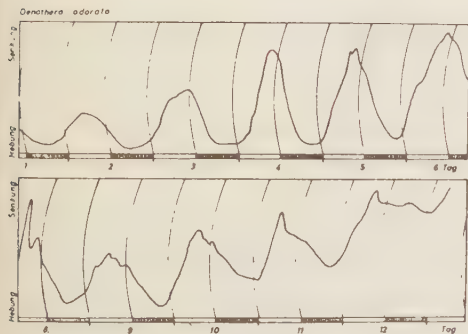


Abb. 25 b. Blattbewegungen der Elternformen *Oe.berteriana* (Abb. 25 a) und *Oe.odorata* (Abb. 25 b) unter konstanten Bedingungen (Dauerlicht 13 000 erg/cm².sec, 22°C).

tagesperiodische Komponente konnte bis zum 12. Tag und länger unter konstanten Bedingungen weiterverfolgt werden, wobei diese allerdings bei *Oe.berteriana* nach dem 6. Tag oft durch starke Nebenschwingungen überlagert wurde (vgl. BÜNNING, MOSER und WOLF 1963 bei *Phaseolus*). Eine exakte Auswertung der Spontanperiode war dadurch erschwert. Trotzdem konnte

gezeigt werden, daß sich die freilaufenden Perioden der Arten unterscheiden. Für *Oe.berteriana* betrugen sie unter den gewählten Bedingungen $24,41 \pm 0,10$ Stunden ($n = 10$), während sie für *Oe.odorata* mit $25,70 \pm 0,11$ Stunden ($n = 11$) wesentlich länger waren (vgl. hierzu Tabelle 3). Die Unterschiede ließen sich statistisch sichern ($P < 0,001$).

Tabelle 3. Spontanperioden der Elternformen *Oe.berteriana* und *Oe.odorata* im Dauerlicht ($13\ 000\ \text{erg/cm}^2\cdot\text{sec}$, 22°C). Angegeben wurden die Perioden in Stunden als Mittelwerte für einzelne Pflanzen, außerdem Gesamtmittelwerte mit Standardfehler für die beiden Arten.

<i>Oe.berteriana</i>	<i>Oe.odorata</i>
24,4	26,2
23,9	25,6
24,9	25,8
24,8	25,3
24,0	25,4
24,4	26,0
24,5	25,3
24,5	26,3
24,3	26,2
24,4	25,2
	25,4
$24,41 \pm 0,10\ (n = 10)$	$25,70 \pm 0,11\ (n = 11)$

Die für *Oe.berteriana* ermittelte Spontanperiode stimmt gut mit den Ergebnissen von ARNOLD (1959) überein. Dieser hatte u.a. den Aufblühzeitpunkt derselben Art untersucht und festgestellt, daß sich auch im Dauerlicht die Blüten um ungefähr dieselbe Zeit - nämlich abends um 20 Uhr - öffneten. Betrachtet man jedoch seine Meßwerte genau, so stellt man fest, daß eine leichte zeitliche Verschiebung des Aufbrechens eintrat und ermittelte eine Spontanperiode von ungefähr 24,3 Stunden. Dies entspricht genau dem an Blattbewegungen bestimmten Wert.

Da auch nach den Übergangszyklen längere und kürzere Perioden auftraten, wurden alle an einer Pflanze bestimmten zeitlichen Abstände der Maxima bzw. Minima zu einem "Einzelwert" zusammengefaßt. Erst diese wurden statistisch bearbeitet, um eine

für die betreffende genetische Konstitution sichere Spontanperiode zu erhalten. Derartige Ergebnisse sind in Tabelle 3 für die Elternformen und in Tabelle 4 (Seite 46) für die Bastarde eingetragen.

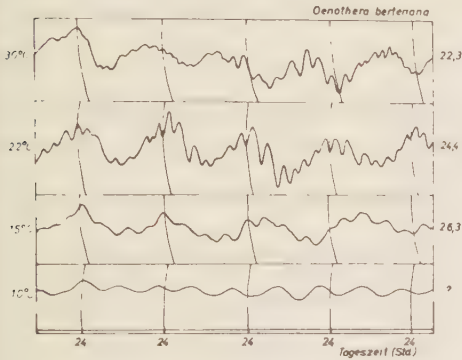


Abb. 26. Blattbewegungen von *Oe. berteriana* bei verschiedenen Temperaturen im Dauerlicht (3 500 Lux). Angegeben ist die durchschnittliche Spontanperiode in Stunden.

Um zu prüfen, ob die Nebenschwingungen von *Oe. berteriana* nur unter der gewählten Versuchsbedingung auftraten oder ob sie genetisch fixiert sind, wurden die Blattbewegungen bei verschiedenen Temperaturen untersucht. Die in Abb. 26 eingezeichneten Kurven stammen von derselben Pflanze, wobei jeweils nach Änderung der Temperatur drei Tage ein Licht-Dunkelwechsel ohne Registrierung zur Anpassung an die betreffenden Bedingungen und zur Regulierung der Rhythmik eingeschaltet wurde. Bei allen untersuchten Temperaturen traten mehr oder weniger stark ausgeprägte kurzperiodische Schwingungen auf, deren Perioden sich bei niedrigen Temperaturen erheblich verlängerten. Da gleichzeitig die Amplitude der tagesperiodischen Komponente abnahm, waren beide bei 10°C schwer zu unterscheiden. Für die Nebenschwingungen wurde ein Q_{10} -Wert von ca. 2 bestimmt (vgl. BÜNNING, MOSER

und WOLF 1963), während die Spontanperiode der circadianen Rhythmik kaum temperaturabhängig war (Q_{10} ungefähr 1,1). Da sich die Nebenschwingungen unter verschiedenen Bedingungen als sehr variabel erwiesen hatten, waren sie als Unterscheidungsmerkmal zwischen den Ausgangsarten oder den Bastarden nicht brauchbar.

3. Untersuchungen mit den reziproken Bastarden und mit den verschiedenen B.l- und v.I-Formen

Mit Hilfe des genetischen Systems der *Mimimania-Oenotheren* ist es möglich, einen eventuellen Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auch bei diesem Merkmal nachzuweisen. Die beiden Formen B.l bert.Cyt., bert.Plast. und B.l od.Cyt., bert.Plast.

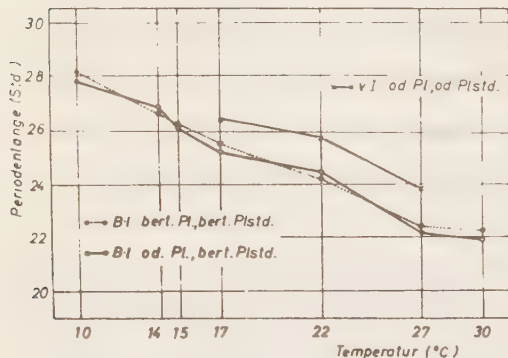


Abb. 27. Abhängigkeit der Spontanperiode von der Temperatur. Eingezeichnet wurden die beiden Elternformen *Oe.odorata* (v.I od. Cyt., od. Plast.) und *Oe. berteriana* (B.l bert.Cyt. bert.Plast.), außerdem die Form B.l od.Cyt., bert. Plast..

eignen sich z.B. hierfür, denn sie unterscheiden sich bei gleichen Genomen und Plastiden nur im Cytoplasma. Falls das Cytoplasma der *Oe.odorata* eine Wirkung auf die Spontanperiode der circadianen Rhythmik ausübt, müßten sich die Perioden dieser *Oenotheren* unter konstanten Bedingungen unterscheiden. Und zwar

müßte das odorata-Cytoplasma bei allen Temperaturen eine Verlängerung der Spontanperiode im Vergleich zu *Oe. berteriana* bewirken. In Abb. 27 wurden die entsprechenden Meßwerte eingetragen. Bei 22°C z.B. beträgt die Spontanperiode $24,41 \pm 0,10$ Stunden ($n = 10$) für B.1 bert.Cyt., bert.Plant. und $24,47 \pm 0,12$ Stunden ($n = 24$) für B.1 od.Cyt., bert.Plant.. Die Werte lassen sich ebenso wie die Meßwerte für alle anderen Temperaturen statistisch nicht trennen. Das odorata-Cytoplasma hat demnach keinen Einfluß auf die Spontanperiode.

Die Prüfung der reziproken Bastarde und der verschiedenen v.I-Formen erbrachte im Prinzip dasselbe Ergebnis: Weder Cytoplasmon noch Plastom üben eine gerichtete Wirkung auf die freilaufende Periode der circadianen Rhythmik aus. Auf die Wiedergabe der Belege wird deshalb verzichtet, da sich keine Beeinflussung durch die außerkaryotische Konstitution nachweisen ließ und weil über einen Teil dieser Befunde schon an anderer Stelle berichtet wurde (FREY und B.SCHWEMMLE 1967 und in Vorbereitung).

4. Der Einfluß der Chromosomenkomplexe auf die Spontanperiode

Die genomische Steuerung der Spontanperiode wurde auch durch die Aufstellung einer Komplexreihenfolge bestätigt. Die Tabelle 4 enthält Mittelwerte mit Standardfehler für die Bastarde mit berteriana-Cytoplasma und berteriana-Plastiden, wobei Formen mit gleichem ersten Chromosomenkomplex nach zunehmender Periode geordnet wurden. Die Aufeinanderfolge der zweiten Komplexe gibt die Komplexwirksamkeit wieder. Aus allen mögli-

Tabelle 4. Der Einfluß der Chromosomenkomplexe auf die Spontanperiode der Blattbewegungs-Rhythmik. Angegeben wurden die Mittelwerte mit dem Standardfehler gemessen unter vergleichbaren Bedingungen (Dauerlicht 13 000 erg/cm².sec, 22°C).

Konstitution	n	($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)	Komplexreihenfolge
B.l	10	24,41 $\pm$ 0,10	- l - v - I
B.v	12	24,62 $\pm$ 0,09	
B.I	11	25,28 $\pm$ 0,04	
l.B	10	24,41 $\pm$ 0,10	B - - v - I
l.v	16	24,98 $\pm$ 0,04	
l.I	9	25,42 $\pm$ 0,05	
v.B	12	24,62 $\pm$ 0,09	B - l - - I
v.l	16	24,98 $\pm$ 0,04	
v.I	11	25,70 $\pm$ 0,11	
I.B	11	25,28 $\pm$ 0,04	B - l - v -
I.l	9	25,42 $\pm$ 0,05	
I.v	11	25,70 $\pm$ 0,11	

chen Kombinationen folgt: B - l - v - I , wobei B kurze und I lange Spontanperiode bewirken. Da auf dieses Merkmal die außerkaryotische Konstitution keinen Einfluß hat, ließ sich das Ergebnis auch an den reziproken Formen mit dem Cytoplasma und den Plastiden der *Oe.odorata* bestätigen.

IV. DISKUSSION

Eine der Hauptfragen dieser Arbeit war, ob die aus den Kreuzungsanalysen erschlossene genetische Konstitution tatsächlich zutrifft, d.h. zu der geforderten biochemischen und biophysikalischen Beschaffenheit des Cytoplasmas und der Plastiden der Versuchspflanzen führt. Zu dieser Prüfung waren unseres Erachtens besonders gut Hitzeresistenzbestimmungen geeignet, die auf Grund der sog. primären bzw. plasmatischen Resistenz (LANGE 1959, 1967, vgl. BELEHRADEK 1935, BOGEN 1948, LEVITT 1958) rasch Rückschlüsse auf den Zustand der Zellen zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung zulassen. Tatsächlich konnten auf diese Weise die bestehenden Unterschiede der außerkaryotischen Konstitution besonders deutlich erfaßt werden. Damit gewinnen die früheren Befunde in entwicklungsphysiologischer Hinsicht mit den gleichen Versuchsobjekten an Gewicht.

1. In allen Versuchen wurden bei den Nachkommen aus reziproken Kreuzungen gleichsinnige Unterschiede in der primären Hitzeresistenz und damit spezifische Unterschiede des entsprechenden Plasmas nachgewiesen. Es konnte gezeigt werden, daß sich die Plasmen der beiden Ausgangsformen *Oe. berteriana* und *Oe. odorata* in der Hitzeempfindlichkeit unterscheiden (Abb. 7) und daß sich diese Abweichungen auch bei den B.v-, B.I- und l.v-Genotypen entsprechend ihres Plasmabesitzes wiederfinden (Abb.14) Dabei ist beachtenswert, daß eine derartige Änderung durch den Einfluß von *berteriana*-Plasma bzw. *odorata*-Plasma in einigen Fällen größer war als die unterschiedliche Hitzeresistenz bei

genomischen Differenzen. Hier könnte die Untersuchung bestimmter stoffwechsel- oder entwicklungsphysiologischer Eigenschaften die Analyse nach der Bedeutung der plasmatischen Komponenten im Vergleich zum Genotypus weiterführen (vgl. ARNOLD 1967).

2. Damit ist die selbständige und spezifische außerkaryotische Konstitution dieser *Oenotheren* erneut belegt. Auch bei den verschiedenen Formen der *Oe. berteriana* (B.1, vgl. Tabelle 1) und der *Oe. odorata* (v.I) ließen sich entsprechende Unterschiede statistisch sichern. Sie lagen immer der Erwartung entsprechend in einer Erhöhung der Hitzeempfindlichkeit durch *odorata*-Plasma und in einer Verminderung durch *berteriana*-Plasma. Die Frage, wie diese durch das Hitzeresistenzexperiment erfaßten Differenzen zwischen den beiden Plasmen zustande gekommen sind, läßt sich an Hand der vorliegenden Ergebnisse nur erörtern. Folgende Möglichkeiten sind denkbar:

- a) Cytoplasma und Plastiden beeinflussen die strukturelle und biochemische Eigenschaft, die zur plasmatischen Hitzeresistenz führt, direkt auf Grund ihrer eigenen genetischen Konstitution; oder
- b) die genetische Konstitution des Plasmas wandelt die Genom so ab, daß die gefundenen Unterschiede nicht auf einer Plasmawirkung, sondern in Wirklichkeit auf den Einflüssen der nunmehr verschiedenen Genotypen beruhen.

Auf Grund der Ergebnisse erscheint es wohl naheliegender, daß die außerkaryotische Konstitution nicht über eine vorher stattgefundene Abänderung des Genotypus bei den beiden jeweils zu vergleichenden reziproken Bastarden wirksam wird, sondern direkt

die der Hitzeresistenz zugrundeliegenden Plasmaeigenschaften bestimmt. Ein schlüssiger Beweis kann jedoch nur nach erneuter Herstellung der Bastarde auf dem Wege von Rückkreuzungen gewonnen werden (B.SCHWEMMLE in Vorbereitung).

3. Läge nämlich eine gerichtete Abänderung des Genotypus unter dem Einfluß einer bestimmten außerkaryotischen Konstitution vor, so wäre eine Aufstellung von klaren, in allen Kombinationen gleichen Komplexreihenfolgen kaum möglich: Für den Einfluß auf die Hitzeresistenz ergab sich beispielsweise die Reihe der Wirksamkeit der Chromosomenkomplexe mit I - v - l - B, wobei der Komplex I starke Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen und der Komplex B eine relative Unempfindlichkeit bedingen. Die Abfolge stimmt sowohl in Kombinationen mit berteriana- als auch mit odorata-Cytoplasma und Plastiden überein.

Eine ganz ähnliche Reihenfolge in der Komplexwirksamkeit ergab sich auch bei anderen Untersuchungen. So wurde beispielsweise für die Vererbung der photoperiodischen Reaktion die Folge I - l - v - B bestimmt; B bewirkt hierbei am stärksten "Langtagcharakter" (B.SCHWEMMLE 1962). Für den Zeitpunkt des Aufblühens im normalen Licht-Dunkelwechsel ermittelte B.SCHWEMMLE (1962) die Reihenfolge B - v - l - I. Es ist verständlich, daß nicht bei allen untersuchten Merkmalen die Komplexreihenfolge gleich ist. Z.B. war die Abfolge bei der Keimförderung durch Hellrot I - B - v - l (HAURY 1962), oder für die Lichtbedürftigkeit der Samen bei der Keimung I - v - B - l (J.SCHWEMMLE 1960), wobei I geringste, l stärkste Lichtabhängigkeit bedingen.

Damit bewirkt der Chromosomenkomplex I z.B. relativ schwachen "Langtagcharakter", geringste Keimförderung im Hellrot und geringste Lichtbedürftigkeit der Samen, während dagegen auch extrem starke Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen von ihm abhängen. Eine genomisch bedingte extreme Labilität,

verbunden mit einer geringeren Hitzeresistenz, braucht keineswegs auch andere physiologische Merkmale stark zu beeinflussen. Der Komplex I vererbt, wenn er vorhanden ist, hohe Hitzeempfindlichkeit, ist aber nicht auch z.B. hinsichtlich der photoperiodischen Abhängigkeit von der Tageslänge oder der Lichtbedürftigkeit der Samen am empfindlichsten.

4. Eine eindeutige Trennung von Cytoplasmon- und Plastomwirkung war - methodisch bedingt - für die Hitzeempfindlichkeit nicht möglich. Es konnte jedoch bei den verschiedenen v.I.-Oenotheren gezeigt werden, daß allein durch den Besitz von berteriana-Cytoplasma (bei sonst gleicher Konstitution) die Hitzeresistenz erhöht wurde und daß der zusätzliche Besitz von berteriana-Plastiden eine weitere Steigerung bedingte. Beide üben also gemeinsam einen spezifischen Einfluß in gleicher Richtung aus. Obwohl keine sichere Auftrennung möglich war, berechtigen diese Befunde doch, auf die Selbständigkeit der beiden Komponenten der außerkaryotischen Konstitution zu schließen.

Die Möglichkeit einer Auftrennung von Cytoplasmon- und Plastomwirkung haben Untersuchungen des photoperiodischen Blühverhaltens (B.SCHWEMMLE 1962) wahrscheinlich gemacht. Neben dem Kern bestimmt nur das Cytoplasma die Blühreaktion, während die Plastiden keine Rolle spielen. Letztere beeinflussen dagegen das Längenwachstum. Eine spezifische Wirkung allein des Plastoms konnte z.B. auch auf die Blattzählung und die Affinität zwischen Samenanlagen und Pollenschläuchen gefunden werden (J.SCHWEMMLE 1938 b, 1957). Außerdem sind die Plastiden für die Pollenlethalität bei weiß-grün panaschierten Oenotheren der Konstitution flavens.flavens entscheidend (STUBBE 1960).

5. Da B.SCHWEMMLE (1962) einen Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auf die photoperiodische Blütenbildung nachgewiesen

hatte, diese aber bis zu einem gewissen Grade von der endogenen Tagesrhythmik gesteuert wird, erschien es lohnend, an *Oenotheren* eine genetische Analyse der circadianen Rhythmik zu versuchen. Verschiedene Autoren (LAUDE 1939 bei Feldgetreidearten, B.SCHWEMMLE und LANGE 1959 an *Kalanchoë bloßfeldiana*) haben tagesperiodische Schwankungen der Hitzeempfindlichkeit beschrieben; deshalb wurden zuerst an Keimlingen Versuche dieser Art angestellt. Dabei änderte sich die Resistenz von *Oenothera lamarckiana* wie die bei *Kalanchoë bloßfeldiana* tagesperiodisch. Die erhöhte Widerstandsfähigkeit in der Dunkelheit und die geringere während der Lichtzeit konnte im Dauerlicht mit gleicher Periode weiterverfolgt werden. Wegen methodischer Schwierigkeiten wurde jedoch die weitere Untersuchung insbesondere der verschiedenen Konstitutionen an endogen-tagesperiodischen Blattbewegungen fortgesetzt. Der unterschiedlich starke Einfluß des Genoms auf die Spontanperiode im Dauerlicht konnte durch Aufstellung einer Komplexreihenfolge belegt werden. Außerdem ergab sich in diesem Fall, daß die außerkaryotische Konstitution keinen Einfluß auf die freilaufende Periode der Blattbewegung hat (vgl. FREY und B.SCHWEMMLE 1967 und in Vorbereitung). Die circadiane Rhythmik wird also auch bei höheren Pflanzen - in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von SCHWEIGER, WALLRAFF und SCHWEIGER (1964) an *Acetabularia* - mit hoher Wahrscheinlichkeit allein genotypisch gesteuert. Es kann natürlich nicht ausgeschlossen werden, daß andere von der inneren Uhr abhängige Merkmale doch einer spezifischen Beeinflussung durch die außerkaryotische Konstitution unterliegen.

Durch Transplantations- und Pfropfungsexperimente an der Alge *Acetabularia* war schon früher der Nachweis gelungen, daß die Phaselage der Rhythmik allein durch den Zellkern determiniert wird (SCHWEIGER 1965). Außerdem war mehrfach versucht worden, durch Kreuzungsexperimente an höheren Pflanzen und Tieren Aussagen über die Genetik der endogenen Tagesrhythmik zu erhalten (BÜNNING 1935 an *Phaseolus*, DANILEVSKI 1965 am Schmetterling *Acronycta rumicis*, NEUMANN 1966 an der Mücke *Clunio*). Bedingt durch die genetische Inhomogenität der Stämme - es wurden Individuen einer Art oder geographische Rassen untersucht - und verursacht durch andere Schwierigkeiten, wurden jedoch bisher keine klaren Resultate gewonnen.

Bemerkenswert ist, daß die gleiche extrachromosomale Konstitution, die einerseits einen deutlichen Einfluß auf die photoperiodische Blühreaktion hat, andererseits aber den Gang der "inneren Uhr" - gemessen an dem Uhrzeiger Blattbewegung - nicht beeinflusst. Hieraus läßt sich schließen, daß die Wirkung der außerkaryotischen Konstitution auf die photoperiodische Steuerung der Blütenbildung offensichtlich nicht über eine Beeinflussung der an der Zeitmessung beteiligten circadianen Rhythmik sondern an anderer Stelle erfolgt.

Zur weiteren Charakterisierung der Wirksamkeit der extrachromosomalen Konstitution ist nun eine Bestimmung der Art der Hitzeschäden in den einzelnen Geweben der Blätter mit cytologischen Methoden angebracht, da möglicherweise bei verschiedenen *Oenothera*-Kombinationen eine unterschiedliche Beeinflussung einzelner Zellen oder ganzer Gewebetypen zu erwarten ist (vgl. Abb. 8a, b). Eine genaue Untersuchung an Hand von histologischen Präparaten soll einer weiteren Arbeit vorbehalten bleiben.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Hitzeresistenzbestimmungen an Keimlingen und älteren Pflanzen der Komplexheterozygoten *Oenothera berteriana* und *Oenothera odorata* (Untergattung *Raimannia*, Familie *Onagraceae*) sowie ihrer mehrförmigen Nachkommenschaft führten zu folgenden Hauptergebnissen:

1. Die Arten *Oe. berteriana* (mit den Chromosomenkomplexen B und I) und *Oe. odorata* (mit v und I) unterscheiden sich in ihrer Hitzeresistenz. *Oe. odorata* ist wesentlich empfindlicher gegenüber hohen Temperaturen als *Oe. berteriana*.
2. Die aus Kreuzungsfolgen gewonnenen und durch Selbstung weitergezogenen reziproken Bastarde reagieren auf Temperaturbehandlung in charakteristischer Weise unterschiedlich. Bei gleichem Genotypus (B.I, I.v oder B.v) ist die extrachromosomale Konstitution für die Reaktionsnorm entscheidend. Cytoplasmon und Plastom der *Oe. berteriana* bewirken verbunden mit einem beliebigen Genotypus immer eine Erhöhung der Resistenz, Cytoplasmon und Plastom der *Oe. odorata* dagegen eine Verringerung.
3. Aus Untersuchungen an den verschiedenen B.I- und v.I-Bastarden ergab sich, daß sowohl die Konstitution des Cytoplasmas als auch die der Plastiden die Hitzeresistenz beeinflusst. Beide Komponenten des Plasmotypus wirken stets gleichsinnig.
4. Der Vergleich der einzelnen Chromosomenkomplexe führte zu der Reihenfolge I - v - I - B . Der Komplex I bedingt daher starke Empfindlichkeit gegenüber hohen Temperaturen, der Komplex B eine relative Unempfindlichkeit.

5. Durch Hitzeresistenzbestimmungen an Keimlingen konnte gezeigt werden, daß die obere Grenze der Temperaturempfindlichkeit bei *Oenotheren* endogen-tagesperiodisch schwankt.

Versuche zur genetischen Analyse der circadianen Rhythmik ergaben:

6. Die beiden Arten *Oe.berteriana* und *Oe.odorata* unterscheiden sich in ihrer Spontanperiode signifikant ($24,41 \pm 0,10$ Stunden bzw. $25,70 \pm 0,11$ Stunden bei 22°C , $13\ 000\ \text{erg/cm}^2\cdot\text{sec}$ Dauerlicht).
7. Weder die Konstitution des Cytoplasmas noch die der Plastiden übt eine gerichtete Wirkung auf die Spontanperiode und damit auf den Gang der "inneren Uhr" aus.
8. Die genotypische Steuerung der circadianen Rhythmik wurde durch die Aufstellung einer Genomkomplex-Reihenfolge bestätigt: B - l - v - I ; B bedingt kurze, I lange Spontanperiode, und zwar in Kombination mit beiden Plasmotypen.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- ARNOLD, C.-G.: Die Blütenöffnung bei *Oenothera* in Abhängigkeit vom Licht-Dunkel-Rhythmus. *Planta* (Berl.) 53, 198-211 (1959).
- Die Plastiden als Erbträger extraplastidaler Merkmale. *Ber. Dtsch.Bot.Ges.* 76, 1-12 (1963).
 - Zur Plasmavererbung bei *Oenothera*. *Ber.Dtsch.Bot.Ges.* 80, 124-127 (1967).
- BELEHRADEK, J.: Temperature and living matter. *Protoplasma-Monogr.* 8, 1935.
- BOGEN, H.J.: Untersuchungen über Hitzetod und Hitzeresistenz pflanzlicher Protoplasten. *Planta* (Berl.) 36, 298-340 (1948).
- BÜNNING, E.: Zur Kenntnis der erblichen Tagesperiodizität bei den Primärblättern von *Phaseolus multiflorus*. *Jb.wiss.Bot.* 81, 411-418 (1935).
- I. MOSER und G. WOLF: Über die Regelung der plagiotropen Blattlage. *Z.f.Bot.* 52, 86-97 (1963).
- CLAUSS, H. und B. SCHWEMMLE: Substanzproduktion und Chlorophyllbildung von Keimpflanzen in 72-Std.-Zyklen mit aufgeteilter Lichtphase. *Z.f.Bot.* 47, 226-250 (1959).
- CLELAND, R.E.: The cytogenetics of *Oenothera*. *Advanc.Genet.* 11, 147 (1962).
- DANILEVSKI, A.S.: Photoperiodism and seasonal development of insects. Edinburgh and London: Oliver & Boyd 1965.
- FREY, H.: Über die Abhängigkeit der Hitzeresistenz von der genetischen Konstitution einiger *Raimannia-Oenotheren*. Staats examensarbeit, Tübingen 1964.
- und B. SCHWEMMLE: *Nachr.Akad.d.Wiss.Göttingen, II.Math.-Phys.Kl.*, 1967 (im Druck, Vortragszusammenfassung).
- HAGEMANN, R.: Plasmatische Vererbung. *Genetik, Grundlagen, Ergebnisse und Probleme in Einzeldarstellungen*. Jena: VEB Gustav Fischer Verlag 1964.
- HAURY, A.: Über die Abhängigkeit der Hellrot-Dunkelrot-Empfindlichkeit von der genetischen Konstitution bei Samenkeimung und Längenwachstum einiger *Raimannia-Oenotheren*. Staats examensarbeit, Tübingen 1962.
- HAUSTEIN, E.: Genetische und zytologische Untersuchungen an *Eu-Oenotheren*. IV. Die Plastidenvererbung bei *Oenothera berteriana* und *Oenothera odorata*. *Z.Vererb.-Lehre* 75, 661-689 (1938).
- KIEFER, G. und W. SANDRITTER: Die Nukleinsäuren des Cytoplasmas. *Protoplasmatologia Bd II, B, 2b*. Wien, New York: Springer-Verlag 1966.

- KIRK, J.T.O. and R.A.E. TILNEY-BASSETT: The Plastids. Their Chemistry, Structure, Growth and Inheritance. London: Freeman 1967.
- KUNZE, D.: Aktionsspektren der Samenkeimung einiger Raimannia-Oenotheren. Staatsexamensarbeit, Tübingen 1966.
- LANGE, O.L.: Untersuchungen über den Wasserhaushalt und die Hitzeresistenz mauretanischer Wüsten- und Savannenpflanzen. Flora (Jena) 147, 595-651 (1959).
- Investigations of the variability of heat-resistance in plants. In: A.S. TROSHIN (ed.): The Cell and Environmental Temperature, p. 131-141. Pergamon Press 1967.
 - und B. SCHWEMMLE: Untersuchungen zur Hitzeresistenz vegetativer und blühender Pflanzen von Kalanchoë bloßfeldiana. Planta 55, 208-225 (1960).
- LAUDE, H.H.: Diurnal cycle of heat resistance in plants. Science 89, 556 (1939).
- LEVITT, J.: Frost, drought, and heat resistance. Protoplasmatologia, Bd VIII/6. Wien: Springer-Verlag 1958.
- LIENERT, G.A.: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik. Meisenheim: Verlag A. Hain 1962.
- LOMAGIN, A.G. and T.A. ANTROPOVA: Photodynamic injury to heated leaves. Planta (Berl.) 68, 297-308 (1966).
- METZNER, H., H. RAU und H. SENGEL: Untersuchungen zur Synchronisierbarkeit einzelner Pigmentmangelmутanten von Chlorella. Planta (Berl.) 65, 186-194 (1965).
- MITRAKOS, K., E. BÜNNING und F. EBERHARDT: Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Chloroplastenfarbstoffe. Z.Naturforschg 12b, 813-814 (1957).
- NEUMANN, D.: Die lunare und tägliche Schlüpfperiodik der Mücke Clunio. Steuerung und Abstimmung auf die Gezeitenperiodik. Z.vergl.Physiologie 52, 1-61 (1966).
- PÁTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen (Eine neue t-Tafel). Biol.Zbl. 63, 152-168 (1943).
- PRECHT, H., J. CHRISTOPHERSEN und H. HENSEL: Temperatur und Leben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1955.
- RÖBBELEN, G.: Untersuchungen an strahleninduzierten Blattfarbmутanten von Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. Z.f.indukt. Vererb.-Lehre 88, 189-252 (1957).
- SACHS, J.: Ueber die obere Temperatur-Gränze der Vegetation. Flora (Jena) 47, 5-12 (1864).
- SAPPER, J.: Versuche zur Hitzeresistenz der Pflanzen. Planta (Berl.) 23, 518-556 (1935).
- SCHWEIGER, E., H.G. WALLRAFF, and H.G. SCHWEIGER: Endogenous circadian rhythms in cytoplasm of Acetabularia: influence of the nucleus. Science 146, 658 (1964).

- SCHWEMMLE, B.: Über den Einfluß von Kern, Plasma und Plastiden auf die photoperiodische Reaktion einiger *Raimannia-Oenotheren*. *Planta* 58, 619-646 (1962).
- und O.L. LANGE: Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz bei *Kalanchoë bloßfeldiana*. *Planta* 53, 134-144 (1959).
- SCHWEMMLE, J.: Genetische und zytologische Untersuchungen an *Eu-Oenotheren*. I. Die Analyse der *Oenothera berteriana* und *Oenothera odorata*. *Z.Vererb.-Lehre* 75, 358-468 (1938 a).
- Genetische und zytologische Untersuchungen an *Eu-Oenotheren*. III. Untersuchungen über das Zusammenwirken von Kern, Plasma und Plastiden. *Z.Vererb.-Lehre* 75, 486-660 (1938 b).
 - Weitere Untersuchungen an *Eu-Oenotheren* über die genetische Bedeutung des Plasmas und der Plastiden. *Z.Vererb.-Lehre* 79, 321-335 (1941).
 - Der Einfluß des Plasmas und der Plastiden auf die Affinität zwischen Samenanlagen und Pollenschläuchen. *Biol.Zbl.* 76, 529-549 (1957).
 - Keimversuche auf genetischer Grundlage. I. Die Lichtabhängigkeit. *Planta* 54, 294-313 (1960).
- SIEGEL, S.: *Non-Parametric Statistics for the Behavioral Sciences*. New York: McGraw-Hill 1956.
- STEIN, I.: Über die Hellrot-Dunkelrot-Empfindlichkeit von *Oenotheren*-Keimlingen verschiedener plasmonischer und plastomischer Konstitution. Staatsexamensarbeit, Tübingen 1962.
- STUBBE, W.: Untersuchungen zur genetischen Analyse des Plastoms von *Oenothera*. *Z.f.Bot.* 48, 191-218 (1960).
- Die Plastiden als Erbträger. In: P. SITTE (ed.): *Probleme der biologischen Reduplikation*. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag 1966.
- WAGENBRETH, D.: Durch Hitzeschocks induzierte Vitalitätsänderungen bei Laubbölzern. *Flora* 156, 63-75 (1965).

Lebenslauf

Am 24. April 1940 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Karl Frey und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Grünwald, in Bad Cannstatt geboren.

Bildungsweg:

1946 - 1950 Volksschule in Ludwigsburg

1950 - 1955 Mörike-Gymnasium in Ludwigsburg

1955 - 1959 Gymnasium-Nürtingen in Nürtingen

17. 2. 1959 Reifeprüfung

Ab SS 1959 Studium an den Universitäten Kiel und Tübingen

25. 5. 1965 Wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Gymnasien.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Bünning, Mägdefrau, Metzner, Nultsch, Schwemmlé in Botanik,

Grell, Möhres, Precht, Risler, Schlieper in Zoologie,

Bayer, Müller, Rüdorff, Weitzel in Chemie,

Schröder, Wagner, Wilhelmy in Geographie,

Bröcker, v.Freytag, Wegener in Philosophie und Pädagogik.

Von Frühjahr 1963 bis 1967 arbeitete ich am Botanischen Institut der Universität Tübingen unter Anleitung von Dozent Dr.B.Schwemmlé zuerst an einer Staatsexamensarbeit und dann an meiner Dissertation: "Untersuchungen über die Hitzeresistenz und circadiane Rhythmik von Oenotheren bekannter genetischer Konstitution".

Druckbüro Frau Elly HUTH, 74 Tübingen